



Hinc patriam sustinet

Instituto Superior de Agronomia
Universidade Técnica de Lisboa



Efeito dos exsudados radiculares na mineralização de resíduos orgânicos aplicados ao solo

Tiago Filipe Dinis Alves

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia do Ambiente – Tecnologias Ambientais

Orientadora: Doutora Cláudia Saramago de Carvalho Marques dos Santos Cordovil
Co-orientadora: Doutora Maria del Rosário Basanta Cornide

Júri:

Presidente: - Doutora Amarilis Paula Alberti de Varennes e Mendonça, Professora Catedrática do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa
Vogais: - Doutora Cláudia Saramago de Carvalho Marques dos Santos Cordovil, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa
- Doutora Maria del Rosário Basanta Cornide, Investigadora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa
- Doutor Pedro Alcântara de Melo Madeira Antunes, Investigador Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Lisboa, 2009

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar expresso o meu mais sincero agradecimento á técnica de laboratório Paula Cristina Pereira Gonçalves da Silva, pela pronta disponibilidade que sempre demonstrou e pelo apoio prestado naqueles longos dias de laboratório. Sem a sua ajuda tudo seria certamente mais difícil.

Á dona Isabel pela sua infinita paciência na manufactura dos sacos e por todo o apoio prestado.

A todos os restantes técnicos de laboratório: Sr. Carlos, dona Madalena e dona Lurdes pelo apoio e pela companhia ao longo deste último ano.

Á minha orientadora Prof. Doutora Cláudia S. C. Marques dos Santos Cordovil pelo seu empenho ao longo de todo este trabalho, pela sua motivação em ir sempre mais além, pela pronta disponibilidade em esclarecer todas as dúvidas.

Á minha co-orientadora Doutora Rosário Basanta Cornide pela grande ajuda, dedicação e prontidão na elaboração destes trabalho. Moitas grazas.

Aos meus amigos Raul Ribeiro, Rui Figueiredo e Sérgio Nascimento pela vossa amizade, companheirismo e compreensão ao longo deste último ano de trabalho intenso.

Às minhas amigas e colegas Susana Pires, Rute Fernandes e Renata Pinto, pela vossa amizade, pelos momentos bons e menos bons, pela vossa ajuda ao longo do percurso académico, sem a qual não sei o que seria de mim a esta hora. Espero que estes anos sejam apenas o inicio de uma longa e próspera amizade.

Á Ana Lúcia, pelo seu amor, por estar sempre a meu lado, apesar de por vezes não ter podido corresponder á altura. Foste tu que me deste alento nos períodos mais difíceis, que me fizeste rir naqueles dias em que nada corria bem, foste o sol num dia de chuva. Espero, agora, poder estar á altura e corresponder de igual forma, tu mereces.

Aos meus pais e ao meu irmão pelo apoio sem limites, pelo seu grande esforço para que este dia fosse uma realidade. Pelas muitas horas de trabalho e empenho para me abrir as portas para um futuro melhor.

À minha restante família pelo apoio e pela força que me deram ao longo de todo este período em que tive um pouco distante. Prometo que agora vou aparecer mais vezes.

RESUMO

Com o objectivo de avaliar a mineralização de diferentes resíduos orgânicos sob o efeito dos exsudados radiculares de diferentes espécies de plantas, foi realizado um ensaio de incubação *in situ*, recorrendo ao método “litterbag”, com enterramento de dois tipos de resíduos, resíduo sólido urbano compostado (RSU) e estrume de galinhas poedeiras, em blocos casualizados, junto das raízes de três espécies lenhosas: Eucalipto, Choupo e Salgueiro, de três espécies herbáceas: Capim Elefante, Cana do Reino e Cana do Açúcar, assim como numa parcela sem coberto vegetal. Para analisar a evolução da mineralização foram retiradas amostras de resíduos (30, 90 e 180 dias) e de solo (90 e 180 dias) e foi monitorizada a actividade de três enzimas (desidrogenase, urease e fosfatase). Também foi determinado o N-mineral no solo e a perda de peso para os resíduos ao longo do tempo. As características gerais de cada resíduo e o factor clima foram fundamentais para os resultados obtidos. O conjunto das lenhosas demonstrou maior eficiência na mineralização de resíduos. A Cana do Reino, o Eucalipto e o Salgueiro foram as espécies, a nível individual, com melhor desempenho na promoção da mineralização dos resíduos orgânicos.

Palavras – chave: exsudados radiculares, lenhosas, herbáceas, mineralização, resíduos orgânicos, actividade enzimática

ABSTRACT

In order to determine patterns of mineralization of different organic residues under the influence of root exudates of different plant species, an *in situ* incubation experiment was performed using the litterbag method, with burial of two types of residues, compost of municipal solid waste (MSW) and poultry manure in randomized blocks near the roots of three woody species: Blue Gum, Black Cottonwood and Willow, three herbaceous species: Elephant Grass, Giant Cane and the Sugar Cane, and in a plot without plant cover. To analyze the evolution of N mineralization destructive samples were collected at 30, 90 and 180 days and soil samples were taken at 90 and 180 days, for enzymes activity determination (dehydrogenase, urease and phosphatase). Mineral N in the soil and weight loss of the residues, were also determined. The general characteristics of each waste and climate were the key factor for the results obtained. The woody species demonstrated greater efficiency in the mineralization of residues. The Giant Cane, Blue Gum and Willow were the species with best performance in residues mineralization.

Keywords: root exudates, woody, herbaceous, mineralization, organic residues, enzymatic activity

EXTENDED ABSTRACT

The Portuguese territory is dominated by low quality soils (66%) with high levels of current and potential erosion: 30% and 68% respectively (Giordano, et al., 1992). Together with the representative climate of Mediterranean regions, low levels of organic matter and poor cultural practices (Cordovil, 2003; Ros, et al., 2003) they form a disturbing scenario and make it urgent to take actions to promote soil conservation while maximizing productivity. Thus it makes sense to use organic residues produced by human activities, from agriculture to municipal solid waste (msw), in order to: not only solve the problem of the fate of these residues, but also as a means of improving soil quality as a resolution of the problem mentioned above.

Energy crops are currently in expansion, due to the constant fluctuations in the price of fossil fuels as well as their non-renewable nature, which has been leading to a diversification on the demand for new energy sources. This new approach has, however, new problems, such as new forms of pressure on agricultural systems with the increasingly intensive crops such as response to the growing demand. The incorporation of organic residues in soil acquires in this context an important role in minimizing its impacts on soil and acts as a tool for the enhancement of productivity.

The process of organic compounds mineralization in soil is a complex system where several agents are involved: chemical, physical and biological. The latter are particularly important as they are directly related to fertility and productivity of soils. The rhizosphere is thus the place where the biological dynamics is more marked, and the root exudates the catalyst for this dynamic. These, can vary in quantity and quality, according to the adaptive needs of each plant species, influencing the environment of the rhizosphere differently and acting selectively on different biological communities (Cheng, et al., 2005), with potential multiplicity in the process of organic compounds mineralization.

From this idea the purpose of this study is to determine patterns of mineralization of two different organic residues, poultry manure and composted municipal solid waste, applied to a vertisol under the influence of root exudates of three wood species: Blue Gum (*Eucalyptus globulus* L.), Black Cottonwood (*Populus trichocarpa* Torr. & Gray) and Willow (*Salix salvifolia* ssp.) Three herbaceous species: the Elephant Grass (*Pennisetum purpureum* L.), the Giant Cane (*Arundo donax* L.) and Sugar Cane (*Saccharum officinarum* L.), as well as a control plot without plant cover.

The experiment consisted of an *in situ* field incubation using the litterbag method, with the burial of organic residues in micro-perforated bags near the roots of the species studied, and later collected at 30, 90 and 180 days of burial. Residues and soil samples, collected in

the vicinity of the bags, were determined enzyme activities: dehydrogenase, urease and phosphatase. In residues was also determined the weight lost and mineral N in soil samples.

The characteristics of each residue and the climatic conditions were decisive for the results. We obtained a faster response in biological activity in the presence of poultry manure than with MSW, and throughout the experimental period had different enzymatic changes. The herbaceous Giant Cane and wood's Blue Gum and Willow were the species, which individually, had a better position to influence the zone of the rhizosphere to promote organic residue mineralization. In rhizosphere microbial activity increased with the addition of organic residues, especially with poultry manure.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. OS MICRORGANISMOS DO SOLO E A DECOMPOSIÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA	3
2.2. AS ENZIMAS DO SOLO	5
2.3. OS EXSUDADOS RADICULARES	7
2.4. OS RESÍDUOS ESTUDADOS	11
2.4.1. ESTRUME DE AVIÁRIO	11
2.4.2. RESÍDUO SÓLIDO URBANO COMPOSTADO	12
2.5. OBJECTIVO	13
3. MATERIAIS E MÉTODOS. RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
4. CONCLUSÕES	15
5. BIBLIOGRAFIA	18

1. INTRODUÇÃO

No contexto europeu, Portugal é um dos países com maior predominância de solos com má qualidade (66% do território), com um terço do país em elevado risco de erosão (Lisbon Meteorological Institute, 2009; European Environment Agency, 2004). Dentro do território nacional, as áreas com maior risco de erosão concentram-se maioritariamente na região sul, onde os solos apresentam menor teor em matéria orgânica (MO). Esta situação decorre de vários factores, sendo os mais relevantes o clima e um historial de práticas culturais inadequadas (Cordovil, 2003). Existe por isso uma grande necessidade de promover o aumento do teor de MO nos solos, permitindo assim aumentar o coberto vegetal e contribuindo para a diminuição da erosão dos solos. A incorporação de resíduos orgânicos não só fornece nutrientes vegetais e contribui para o aumento dos teores de MO no solo, como promove a reactivação das propriedades biológicas e bioquímicas do solo, estimulando a proliferação da comunidade microbiana e o aumento da sua actividade metabólica, através do incremento das enzimas e dos metabolitos, que irão actuar sobre substratos específicos (Nannipieri, et al., 1990) incorporados com os materiais orgânicos.

Por outro lado, o grande crescimento demográfico observado desde o século XX, tem aumentado exponencialmente a produção de resíduos provenientes dos mais diversos sectores, entre os quais importa destacar o agrícola, o agro-industrial, o doméstico e o urbano. Historicamente estes resíduos têm como destino final o aterro, ou em alguns casos a incineração, constituindo um enorme desperdício de potencial em energia e material orgânico. No entanto, nos últimos anos, tem-se assistido a uma mudança de paradigma, seja como resposta a uma nova consciencialização colectiva e/ou como resultado de um aprofundamento no estudo das suas propriedades e reconhecimento das suas qualidades como correctivo orgânico (Gajdoš, 1998; Clapp, et al., 2007).

Todos os materiais orgânicos adicionados ao solo terão de sofrer um processo de mineralização para poderem disponibilizar os nutrientes necessários ao desenvolvimento das plantas. Este processo natural está dependente de dois grandes factores, as condições ambientais e a qualidade dos resíduos (Varennnes, 2003). Enquanto o primeiro determina o conjunto de circunstâncias que potenciam a actividade microbiana na decomposição da MO, o segundo estabelece a maior ou menor propensão dos resíduos a essa decomposição. Desta forma, destaca-se o papel chave dos microrganismos na reciclagem e disponibilização de nutrientes para as plantas, que sem eles não seria possível. Um dos papéis dos microrganismos é a produção de enzimas que catalisam a decomposição dos resíduos orgânicos transformando as formas mais complexas em compostos simples (Dilly,

et al., 1996; Dilly, et al., 2001), contribuindo assim para a fertilidade dos solos. A sua acção, contudo, pode ser influenciada pelas plantas, através das raízes, na zona denominada de rizosfera. De entre os vários processos que ocorrem nesta região do solo, que conferem dinâmica à relação planta-microrganismos, destacamos a exsudação radicular. Este é um processo particularmente importante em plantas sujeitas a condições de stress nutritivo, uma vez que é responsável pela disponibilização de substratos orgânicos que promovem actividade microbiana e dessa forma aceleram a mineralização da MO, disponibilizando os nutrientes necessários ao desenvolvimento vegetal. As plantas produzem vários tipos diferentes de exsudados radiculares, variando de espécie para espécie como resposta a necessidades adaptativas distintas (Van der Krift, et al., 2001; Warembourg, et al., 2003; Vale, et al., 2005) e causando impactos ecológicos, no macro e microbiota, de formas diversas (Bertin, et al., 2003). As circunstâncias que provocam esta variabilidade interespecífica são pouco conhecidas na actualidade.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. OS MICRORGANISMOS DO SOLO E A DECOMPOSIÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA

Os organismos do solo são todos aqueles cujo habitat natural é o solo. A sua constituição abrange todos os cinco reinos da natureza: bactérias, fungos, algas, protozoários e animais. Esta diversidade biológica é um indicador fundamental da qualidade do solo, pois ela é a força motriz para a utilização de uma grande variedade de substratos orgânicos por meio de um vasto leque de reacções bioquímicas diferentes (Varennnes, 2003). Os organismos edáficos e a sua actividade, no entanto, não se encontram uniformemente distribuídos pelo solo, estando antes concentrados em determinados nichos, como a rizosfera ou na proximidade de substratos orgânicos e inorgânicos facilmente disponíveis (Killham, 1996).

A acção e o desenvolvimento da comunidade de organismos do solo estão dependentes de factores ambientais, como o pH, a temperatura e o teor em humidade, da qualidade e quantidade de alimento disponível, para além de factores bióticos. Estes requisitos para o seu desenvolvimento são muitas vezes idênticos aos das plantas, com a grande diferença de que os primeiros, por serem maioritariamente heterotróficos, necessitam de quantidades constantes de compostos orgânicos, daí que em solos florestais a diversidade biológica seja maior do que em solos cultivados (Varennnes, 2003).

Para além do carbono, os organismos do solo requerem azoto, enxofre e fósforo, numa proporção de C:N:S:P de cerca de 100:10:1:1 (Varennnes, 2003), de micronutrientes como ferro, cobre e molibdénio e em alguns casos de compostos pré-formados (factores de crescimento) como vitaminas e aminoácidos. Os substratos orgânicos necessários ao metabolismo dos organismos heterotróficos podem ser providos de várias formas, com o extracto vegetal a desempenhar um papel importante neste ponto. A biomassa resultante do processo fotossintético pode ser disponibilizada ao solo por meio de resíduos vegetais, principal fonte nos ecossistemas naturais, ou sob a forma de excrementos dos animais herbívoros. As raízes mortas são outra forma de fornecer material orgânico ao solo, mas também o podem fazer quando vivas, excretando compostos de baixo peso molecular, os exsudados radiculares, ou compostos de elevado peso molecular, mucilagem (Wood, 1995).

Em solos onde predomina o uso agrícola, a maior parte da biomassa não regressa ao solo, nomeadamente os resíduos vegetais, sendo que em certos casos ela restringe-se ao material orgânico proveniente das raízes. Por isso, com o objectivo de manter a actividade dos organismos do solo, e a partir daí assegurar a sua produtividade, procede-se frequentemente à aplicação de MO, sob a forma de estrumes, chorumes, biossólidos e compostos.

Solos diferentes apresentam teores de MO variável, desde os solos áridos com valores na ordem de 1% de MO até aos solos orgânicos com valores acima 15% de MO, com os solos minerais das regiões temperadas a apresentarem valores na ordem dos 1 - 3% de MO. Desta MO, 5% está sob a forma de azoto orgânico, o que equivale a dizer que nos solos minerais de regiões temperadas encontramos 0,05 – 0,15% de azoto orgânico endógeno, que representa mais de 95% do azoto total do solo (Varenes, 2003). Tanto a mineralização dos resíduos orgânicos incorporados como da MO endógena refere-se à degradação da celulose, hemicelulose, lenhina, proteínas, açúcares e amido em amónio (NH_4^+), a forma mineral. Este é um processo desencadeado pelos microrganismos e que se desenvolve em várias etapas. A taxa de decomposição destes compostos, no entanto, não ocorre de forma homogênea, com os compostos fenólicos e a lenhina a apresentarem maior resistência à degradação, ao contrário dos açúcares e do amido, mais lábeis. Quando os resíduos orgânicos são incorporados ao solo produz-se uma intensa actividade microbiana pela grande abundância de compostos facilmente decomponíveis, depois diminui a actividade e ficam os constituintes mais estáveis que só podem ser decompostos pelos organismos mais eficientes.

Após a mineralização dos compostos orgânicos azotados é possível perceber, neste ponto, que poderá ocorrer competição, entre as raízes das plantas, os microrganismos e os animais do solo, pela aquisição das formas minerais. O maior ou menor sucesso na aquisição dessas formas minerais depende de vários factores: densidade e arquitectura da raiz, existência de micorrizas, concentração e forma do azoto mineral e o nível de nitrificação.

O fósforo, tal como o azoto, encontra-se no solo em forma minerais e orgânicas mas, ao contrário deste último, é mais representativa a forma mineral, para além de, grosso modo, existir em quantidades até 10 vezes inferiores à quantidade normal de azoto. Ambos os nutrientes são os que apresentam maior importância no que diz respeito à produção vegetal. Em condições naturais o fósforo, para além dos seus baixos teores, encontra-se em formas pouco disponíveis para as plantas. Mesmo em solos agrícolas, a aplicação de fertilizantes com este elemento não altera grandemente esta condição. Tal facto deve-se à sua quase imediata adsorção à matriz do solo associada a uma baixa amplitude de difusão, muito próxima da raiz e limitado a um pequeno volume de solo ao qual pode ser extraído (Varenes, 2003).

No solo o fósforo pode encontrar-se na forma de: componente da matéria orgânica; em minerais e compostos amorfos; adsorvido à matriz do solo; na solução do solo em forma de iões e de compostos orgânicos solúveis. A forma orgânica está presente como substâncias relativamente complexas, daí que para a sua utilização pelas plantas seja

necessário sofrer mineralização. À semelhança do que acontece com o azoto este processo é desencadeado pelos microrganismos do solo, podendo também ocorrer fenómenos de imobilização, mas neste caso apenas para valores de razão C/P superiores a 300 (Santos, 1996).

O comportamento do fósforo no solo é bastante complexo e a sua disponibilidade depende de um vasto conjunto de factores. As próprias plantas possuem mecanismos que permitem contornar esse comportamento (estímulo á formação de micorrizas), mas a acção humana também pode promover a sua maior disponibilidade (correccção da reacção do solo, aplicação localizada de fertilizante, etc.).

2.2. AS ENZIMAS DO SOLO

A versatilidade da comunidade microbiana edáfica confere ao solo a capacidade de degradar todos os compostos naturais e a grande maioria dos artificiais que lhe são adicionados. Muitas das enzimas envolvidas nestas reacções estão localizadas dentro dos organismos (enzimas endocelulares), mas o solo também possui actividade enzimática que persiste mesmo após a inibição ou a morte da actividade microbiana (enzimas extracelulares), e que é responsável pela degradação de substratos insolúveis como proteínas e hidratos de carbono, que não conseguem entrar nas células (Wood, 1995).

A função bioquímica das enzimas é importante em todas as etapas de decomposição da MO no solo e opera como catalisador dos processos biológicos na manutenção da vida no solo promovendo a estabilidade da sua estrutura e no funcionamento do ciclo dos nutrientes (Makoi, et al., 2008). A actividade enzimática pode providenciar assim, uma indicação para as alterações quantitativas na MO do solo. É conhecido que o aumento da actividade enzimática está relacionado com o aumento do conteúdo em MO do solo, reflectindo um aumento das comunidades microbianas e estabilização das enzimas no material húmico. De entre as enzimas com um papel importante na decomposição dos materiais orgânicos endógenos e exógenos nos solos, destacam-se a desidrogenase, a fosfatase e a urease.

A desidrogenase é uma enzima endocelular dos microrganismos do solo, ou seja, não é acumulada extracelularmente. Está associada à oxidação da matéria orgânica, pela transferência de electrões e protões de determinados substratos para aceptadores finais, num processo que faz parte do mecanismo respiratório dos microrganismos, logo está intimamente relacionado com o tipo de solo e o seu teor em humidade (Makoi, et al., 2008). Esta enzima é usada com frequência na análise de solos submetidos a diferentes maneios e também na medição directa da actividade microbiana geral dos solos. A actividade da

desidrogenase pode depender de múltiplos factores, (Quilchano, et al., 2002) particularmente os sazonais nos solos de climas mediterrânicos. Amostras de solo colhidas no Outono mostravam o dobro da actividade enzimática comparativamente a amostras recolhidas no Verão, ou seja, os períodos chuvosos aumentam a actividade dos microrganismos. Estes dados obtidos, confirmam que os microrganismos do solo se desenvolvem melhor em solos com um bom teor de humidade. A actividade enzimática também é maior nos solos florestais porque estes têm a capacidade de manter um nível de humidade adequado e relativamente estável, para além de fornecerem um substrato orgânico, sob a forma de resíduos foliares, principalmente no Outono, que estimulam a actividade microbiana e, assim, potenciam a actividade enzimática.

As fosfatases são um grande grupo de enzimas que desempenham um papel fundamental no ciclo do fósforo, estando associadas a situações de stress por défice deste elemento e ao crescimento das plantas. Estas enzimas catalisam a hidrólise de ésteres e anidridos do ácido fosfórico. São consideradas bons indicadores da fertilidade do solo (Makoi, et al., 2008).

As fosfatases podem ser produzidas tanto pelas plantas (exsudação radicular) como pelos microrganismos. Nas primeiras, a quantidade produzida varia de acordo com a espécie pelas necessidades específicas de cada uma. Uma leguminosa liberta maior quantidade desta enzima do que uma gramínea, por exemplo, possivelmente devido á sua relação simbiótica com fixadores de azoto (Makoi, et al., 2008). No que diz respeito aos microrganismos, os maiores responsáveis pela produção desta enzima são os fungos ectomicorizas e bactérias (Dinkelaker, et al., 1992). Existem também diferenças entre eles quanto ao tipo de fosfatases produzidas, enquanto as plantas e os ectomicorizas libertam fosfatases ácidas as bactérias também libertam fosfatases alcalinas, dependendo do pH do solo a existência de cada uma das formas da enzima.

A maior concentração destas enzimas está presente na camada superficial do solo e na rizosfera, onde a quantidade de matéria orgânica é maior. Este facto sugere que a sua actividade depende, em maior extensão, da matéria orgânica, mas depende também do tipo de solo e da sua fertilidade, da gestão dos seus recursos nutritivos, do pH do solo e do teor em humidade (Eichler, et al., 2004).

A enzima urease é uma das mais estudadas em análises de rotina da qualidade e fertilidade dos solos e na avaliação do impacto dos contaminantes. A urease é uma enzima responsável pela transformação da ureia em NH_4 , num processo que envolve a hidrólise da primeira, com formação de NH_3 e CO_2 , com a subida do pH do solo. O amoníaco, por sua

vez, encontra-se em equilíbrio com o ião amónio na solução do solo. De forma natural, ela pode ser formada tanto nas plantas como nos microrganismos, como uma enzima intra ou extracelular. No entanto, quando são realizadas análises à actividade da urease nos solos apenas é considerada a urease extracelular, uma vez que esta se associa aos complexos organo-minerais dos solos tornando-a mais estável, ao contrário da urease intracelular que é rapidamente degradada por enzimas proteolíticas (Makoi, et al., 2008).

A sua actividade é proporcional à biomassa microbiana que, por sua vez, depende da quantidade de matéria orgânica que existe no solo. Para além disso também depende de factores como o teor em metais pesados, do teor de humidade, do tipo de cultura ou da temperatura. Se ocorrer uma elevada actividade da urease, preferencialmente em solos alcalinos, a hidrólise da ureia também será mais rápida, resultando em sérias perdas de amónio por volatilização, ou lixiviação, no caso de uma aplicação coincidente com o período das chuvas. Este comportamento deve-se sobretudo à sua impossibilidade de ser adsorvida na matriz do solo (Berl, et al., 1978).

2.3. OS EXSUDADOS RADICULARES

O sistema solo é descrito como um meio altamente complexo, que engloba uma heterogeneidade física e química numa escala temporal e espacial. A sua estrutura desempenha um papel central para o desenvolvimento dos organismos edáficos (habitat e meio na busca de recursos essenciais), cuja actividade irá gerar impacto na formação e preservação dessa mesma estrutura, assim como na sua fertilidade. As plantas, por sua vez, irão ser de extrema importância na formação e manutenção de todos os outros processos, através do crescimento e função do sistema radicular. De forma natural, as raízes são responsáveis pela entrada de carbono no solo, através da translocação de fotoassimilados (produção primária bruta) (Pierret, et al., 2007). Estes compostos são fornecidos pela raiz sob a forma de mucilagem, exsudados solúveis ou lisatos. A exsudação radicular é um processo de difusão dos solutos das raízes até à solução do solo, pelo que a actividade microbiana na rizosfera será maior em espécies vegetais com alta concentração de exsudados radiculares, um crescimento rápido e uma pequena quantidade de C estrutural na raiz, o que pode limitar a difusão passiva dos exsudados através dos tecidos radiculares (Valé, et al., 2005). As próprias raízes apresentam heterogeneidade funcional, onde diferentes tipos de raízes desempenham papéis distintos. Exemplo desta diversidade funcional acontece no milho (*Zea mays* L.) onde as raízes seminais e as radículas têm como principal tarefa o fornecimento de água à planta, pelo menos em grande parte do seu ciclo de vida, enquanto as raízes nodulares parecem estar mais envolvidas na obtenção de

recursos como o fósforo. A mesma raiz pode também ter comportamentos diferenciados ao longo do seu perfil, principalmente à medida que vai envelhecendo e o seu estado fisiológico se altera. Dependendo do nível de azoto, partes de algumas raízes libertam protões como forma de acidificar a rizosfera, enquanto outras zonas libertam iões hidróxido (Pierret, et al., 2007).

Para além dos aspectos fisiológicos as famílias de plantas também diferem na sua arquitectura radicular, resultado de mecanismos próprios de adaptação aos vários ambientes onde estão inseridas. Desde as fasciculadas (ex. herbáceas) até às aprumadas (ex. lenhosas), as raízes apresentam alguma plasticidade, como resposta, por exemplo, ao stress nutritivo (Fig. 1).

Como já foi referido anteriormente, os

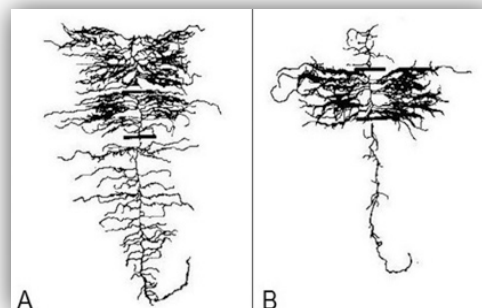


Figura 1: Efeito do fornecimento localizado de nutrientes (A: distribuição homogênea de nitratos; B: distribuição localizada de nitratos) (in. Pierret, et al., 2007)

exsudados radiculares são compostos libertados pelas células de raízes intactas para o solo por difusão passiva, principalmente na zona apical. Os exsudados radiculares são frequentemente divididos em duas classes de compostos (Bais, et al., 2006): compostos de baixo peso molecular como aminoácidos, ácidos orgânicos, açúcares, fenóis e outros metabolitos secundários, e compostos de alto peso molecular como mucilagem (polissacáridos) e proteínas, que são menos variados mas estão presentes em quantidades consideráveis nos exsudados radiculares. Estes compostos têm a capacidade de ser rapidamente utilizados pelos microrganismos da rizosfera, devido à sua natureza lábil, promovendo o aumento da sua população e acelerando o processo de decomposição da MO. Segundo Bowen, et al. (1991), na rizosfera observa-se uma distribuição espacial dos microrganismos, que é representada por um gradiente da zona apical para a basal da raiz, existindo desta forma um desenquadramento parcial relativamente à região de maior

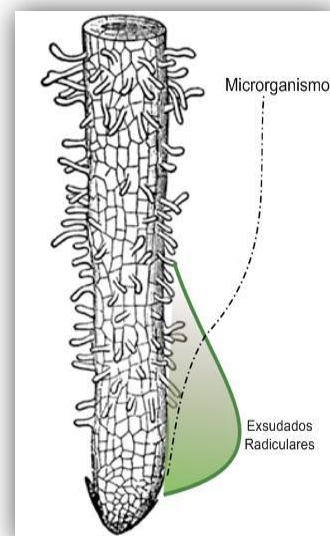


Figura 2: Separação espacial entre os exsudados de baixo peso molecular e a actividade microbiológica. (in. Marschner, 1995)

exsudação (Fig. 2), aumentando a eficácia dos exsudados, principalmente quando estes actuam directamente na matriz do solo. O fluxo dos exsudados também pode ser afectado pela dinâmica dos nutrientes na rizosfera e a sua aquisição, pelo estado nutricional das plantas e pela impedância mecânica do substrato (Marschner, 1995). Existem, no entanto, diferenças entre espécies, não só em termos de quantidade de exsudados libertados mas também na proporção dos seus constituintes (Quadro 1). Como consequência dessas

diferenças as populações de microrganismos podem variar na sua estrutura e composição, mesmo ao longo do eixo de uma mesma raiz.

Quadro 1: Fraccionamento dos compostos carbonados solúveis exsudados para a rizosfera (Hutsch, et al., 2002)

Espécie planta	% do total dos exsudados solúveis		
	Ácidos orgânicos	Hidratos Carbono	Aminoácidos
<i>Triticum spp.</i>	34	49	6
<i>Pisum sativum</i>	9	52	7

Um aumento da exsudação radicular ocorre principalmente em situações de stress nutritivo para as plantas, alterando a química do solo na vizinhança das raízes e servindo como substrato para o crescimento selectivo dos microrganismos. Por exemplo, em situações de deficiência em potássio, no milho, a quantidade de exsudados aumenta e a fracção de ácidos orgânicos é favorecida, ou os Eucaliptos, que como planta adaptada a solos ácidos exsudam ácido málico e cítrico, assim como fenóis, para aumentar o teor de fosfato inorgânico em solução. No conjunto das herbáceas também se observa a exsudação de aminoácidos não-proteicos em situações de carência de micronutrientes, principalmente ferro (Marschner, 1995).

O caso contrário, ou seja, uma redução da exsudação radicular, também pode acontecer, especialmente em solos fertilizados. Phillips, et al., 2008, determinaram o efeito da fertilização do solo na comunidade microbiana e na taxa de mineralização de solos florestais, recorrendo a três espécies (*Acer saccharum* Marshall, *Quercus rubra* L. e *Betula allenghaniensis* Britton), e de solos não cultivados. Dos resultados obtidos foi possível observar que nas parcelas de solos utilizadas o efeito da rizosfera na biomassa microbiana foi reduzido nas três espécies da amostra, e que a taxa de mineralização do azoto e a actividade da fosfatase foram reduzidas na parcela da espécie *Q. rubra*. Uma maior magnitude destes efeitos foi sentida na rizosfera das espécies lenhosas utilizadas, indicando que a fertilidade do solo pode influenciar a forma como as raízes afectam a actividade microbiológica, principalmente no fornecimento de compostos de C. Nestas circunstâncias é possível observar que as raízes das plantas têm a capacidade de desempenhar um papel muito importante na decomposição da MO. Estes efeitos podem ser sob a forma de redução da disponibilidade de nutrientes para os organismos do solo, devido à sua apropriação pelas plantas, alterando física e quimicamente o ambiente na rizosfera, aumentando a proporção de substratos orgânicos (ex: exsudados radiculares) para os microrganismos da rizosfera e aumentando o “turnover” microbiológico. Cheng, et al., 2005, destacam a falta de consenso relativamente aos processos que regulam a intensidade dos efeitos das raízes na

decomposição da MO. Algumas hipóteses foram lançadas no sentido de resolver esta falta de consenso, das quais se destacam 4:

Hipótese da competição: defende que em condições de stress de nutrientes as plantas e os microrganismos da rizosfera competem fortemente pelos nutrientes disponíveis, principalmente o azoto, partindo do princípio que este elemento é o mais limitante para os microrganismos do solo e para as plantas. Nesta competição os microrganismos podem incorporar, a curto prazo, NH_4^+ e NO_3^- até 5 vezes mais rápido do que as plantas (imobilização), devido á sua elevada afinidade para os substratos, rápida taxa de crescimento e elevada razão superfície/volume. No entanto, a longo prazo, as plantas conseguem obter mais N, mesmo em competição com os microrganismos, porque estes tem um tempo de vida mais curto que as raízes e o N acumulado regressa depois ao solo, podendo então ser capturado por estas. Daqui resulta um decréscimo da taxa de decomposição da MO.

Hipótese da utilização preferencial de substrato: é defendida a ideia de que num ambiente com um bom fornecimento de N mineral, os microrganismos preferem o $\text{C}_{\text{lável}}$ proveniente das raízes em contrapartida ao $\text{C}_{\text{lável}}$ da MO, o que resulta num decréscimo da taxa de decomposição da MO. Na situação contrária, isto é, em situações de stress nutritivo, os microrganismos preferem o $\text{C}_{\text{lável}}$ proveniente da MO ao $\text{C}_{\text{lável}}$ proveniente das raízes. Esta hipótese vem defender a teoria de que o nível de fertilização dos solos influencia a “escolha” dos substratos pelos organismos.

Hipótese da activação microbiológica: baseia-se no princípio de que as substâncias libertadas pelas raízes ficam imediatamente disponíveis para os microrganismos da rizosfera estimulando o seu crescimento e, desta forma, promovendo a decomposição co-metabólica da MO, resultando num aumento da taxa de decomposição da MO. Os microrganismos são assim a chave para o efeito de estímulo na rizosfera. É realçada também a relação entre a quantidade de N libertada da MO e o nível de actividade das enzimas extracelulares, como foi observado em solos com elevados níveis de N onde uma forte entrada de substratos acessíveis, como a glucose (exsudado radicular), aumenta a actividade da desidrogenase e o número de bactérias amonificantes, mas decresce a quantidade total de C na solução do solo. Um aumento de substrato para os microrganismos induz, assim, a produção e o aumento de enzimas, promovendo a decomposição co-metabólica da MO.

Na fase inicial deste processo, logo após a libertação de compostos de C pela raiz, pode ocorrer um abaixamento da taxa de decomposição da MO, devido ao crescimento da comunidade microbiana e imobilização mas, posteriormente, devido ao “turnover” de uma nova biomassa microbiológica, a decomposição da MO sofre um incremento e a quantidade

de nutrientes libertados aumenta. A qualidade e a magnitude deste processo vão, então, depender da qualidade dos substratos provenientes da exsudação radicular.

Hipótese dos mecanismos de interacção: nesta hipótese são propostos 4 cenários, dependendo da forma como os nutrientes (C e N) limitam o crescimento microbiológico:

- I. Se o $C_{\text{disponível}}$ e o $N_{\text{mín}}$ limitarem o crescimento dos microrganismos, a competição entre os microrganismos e as plantas pela obtenção do $N_{\text{mín}}$ é dominante, com um decréscimo da actividade microbiana, resultando numa redução da decomposição da MO.
- II. Se só o $C_{\text{disponível}}$ for o factor limitante do crescimento microbiológico, os microrganismos utilizam preferencialmente os rizodepósitos em vez da decomposição da MO.
- III. Se só o $N_{\text{mín}}$ for o factor limitante então a rizodeposição pode funcionar como impulsionador da actividade microbiológica ou então provocar a competição por nutrientes minerais entre os microrganismos e a planta. Os dois casos podem também ocorrer ao mesmo tempo.
- IV. Quando não há limitação em nenhum dos dois elementos, o rápido crescimento microbiológico promove uma “predação faunística” na rizosfera, resultando num aumento da decomposição da MO e a dominação pelo mecanismo de activação microbiana.

Das hipóteses expostas as que apresentam maior diferença são a hipótese da competição e a hipótese da utilização preferencial de substrato. Cheng, et al. (2005), sugerem que a realidade poderá estar perto da conjugação dessas hipóteses. Num gradiente de nutrição mineral a hipótese de competição pode ser aplicada a condições de défice nutritivo, enquanto a hipótese da utilização preferencial de substrato é válida em solos com boas condições nutritivas. No conjunto das hipóteses, no entanto, ressalta uma ideia comum, a actividade microbiológica na vizinhança das raízes é fortemente influenciada pela fertilidade do solo onde está inserido.

2.4. OS RESÍDUOS ESTUDADOS

2.4.1. ESTRUME DE AVIÁRIO

Portugal produziu, em 2008, 123.515 t de ovos, (Instituto Nacional de Estatística, 2009), o que equivale a uma produção aproximada de $1 \text{ milhão de t.ano}^{-1}$ de estrumes. Esta quantidade de resíduo produzida representa um desafio quanto ao seu destino final, e a valorização agrícola apresenta-se como uma possível solução sustentável, principalmente sendo um dos resíduos orgânicos mais ricos e com maior equilíbrio no que diz respeito aos

macronutrientes principais. De facto estes estrumes são ricos em azoto e, no caso das galinhas poedeiras, contêm elevadas quantidades em fósforo e cálcio, decorrentes da inclusão na sua dieta de carbonatos e fosfatos de cálcio (Santos, 2001). A sua baixa razão C/N e o seu elevado teor em P orgânico poderão, no entanto, levar a fenómenos de poluição localizada, tanto pela libertação de quantidades consideráveis de NH_3 para a atmosfera como por fenómenos de eutrofização em águas superficiais por acumulação de fósforo decorrente de perdas elevadas (Szogi, et al., 2009). Para além destes factores limitantes existem outros, como o risco de salinidade, o pH (elevado) e os micronutrientes cobre e zinco que podem estar presentes em grandes concentrações.

Quadro 2: Principais aspectos da composição de estrumes de galinhas poedeiras (resultados referentes à matéria seca. (Santos, 2001)

Parâmetros	
Matéria seca (%)	52,0
Matéria Orgânica (%)	39,8
pH	6,7
Azoto (N, %)	6,6
Fósforo (P_2O_5 , %)	5,2
Potássio (K_2O , %)	1,9
Magnésio (Mg, %)	0,7
Cálcio (Ca, %)	11,9
Sódio (Na, mg.kg^{-1})	4200
Ferro (Fe, mg.kg^{-1})	1304
Cobre (Cu, mg.kg^{-1})	21
Zinco (Zn mg.kg^{-1})	110
C/N	5,3
Condutividade (mS.cm^{-1})	6,5

2.4.2. RESÍDUO SÓLIDO URBANO COMPOSTADO

A compostagem de resíduos sólidos urbanos (RSU) surgiu como uma necessidade de valorizar este tipo de resíduos, em alternativa à deposição em aterro, aproveitando o seu elevado potencial como fonte de matéria orgânica. No sentido de promover o aproveitamento desse potencial foram elaborados planos estratégicos a nível nacional, o PERSU I e o PERSU II, com consequente propagação por todo território nacional de Sistemas de Gestão de Resíduos Urbanos. Dos 4,7 milhões de toneladas de RU recolhidos em 2007, 11% destinaram-se a valorização orgânica, um aumento face aos 8% registados em 2005 (Agência Portuguesa do Ambiente, 2008). A vantagem deste tipo de resíduos reside na sua capacidade de fornecer ao solo matéria orgânica estabilizada, que pode

contribuir para o aumento do seu teor no solo a médio e longo prazo, fornecendo também ao solo nutrientes vegetais de forma mais controlada do que se fosse aplicado em fresco e contribuindo para uma melhoria da estrutura física do solo. Um dos parâmetros que reflecte essa estabilidade é a elevada razão C/N, podendo frequentemente ultrapassar o valor de 20, sem que com isso implique necessariamente a imobilização do azoto mineral, já que o uso frequente de resíduos de podas no processo de compostagem eleva para valores consideráveis os teores em lenhina, compostos carbonados de difícil decomposição (Santos, 2001).

Os riscos inerentes à aplicação destes resíduos prendem-se, sobretudo, com a possível presença de metais pesados e o risco de salinização do solo, com elevação do pH. No entanto, os resíduos compostados em locais certificados para o efeito, seguem indicadores mínimos de qualidade para que a sua aplicabilidade em agricultura seja a mais segura possível.

2.5. OBJECTIVO

O objectivo deste trabalho foi o de determinar o nível de decomposição de dois resíduos orgânicos aplicados ao solo, sob influência dos exsudados radiculares de espécies diferentes, lenhosas e herbáceas, e a partir daí procurar estabelecer um padrão de comportamento entre elas.

Para este trabalho foi realizado um ensaio de incubação *in situ*, no campo experimental Bioenergisa, situado na Terra Grande no Instituto Superior de Agronomia, realizado em blocos casualizados pelo método dos “litter bags” (OCDE, 2006) com recurso a dois tipos de resíduos, os resíduos sólidos urbanos compostados (RSU) e o estrume de aviário (EA), num solo denominado Vertissolo, regime xérico (Medina, 1993). Os sacos com os resíduos foram colocados na proximidade das raízes de três espécies lenhosas, o Eucalipto (*Eucalyptus globulus* L.), o Choupo (*Populus trichocarpa* Torr. & Gray) e o Salgueiro-branco (*Salix salviifolia* ssp), e na proximidade de três herbáceas, o Capim Elefante (*Pennisetum purpureum* L.), a Cana do Reino (*Arundo donax* L.) e a Cana do Açúcar (*Saccharum officinarum* L.). Como controlo foram enterrados sacos de resíduos em solo sem coberto vegetal.

Para realização de análises foram retirados sacos e amostras do solo no local do ensaio aos 0, 30, 90 e 180 dias após a instalação do ensaio, para determinação das actividades de três enzimas: a desidrogenase, a fosfatase e a urease, conhecidas por serem bioindicadores da actividade dos microrganismos do solo.

3. MATERIAIS E MÉTODOS. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os materiais e métodos assim como os resultados obtidos neste trabalho e a discussão são apresentados no artigo que se segue, que foi submetido a publicação na revista internacional "Soil Biology & Biochemistry".

Cover page

Regular paper.

2009-11-06

Text pages: 13

Number of tables: 2

Number of figures: 3

Title: Influence of root exudates of bio-energy crops on the decomposition of organic residues under Mediterranean conditions

Names of authors: Alves, T F, Cordovil CMdS*, Basanta R

Afiliations: Instituto Superior de Agronomia, TU Lisbon, Tapada da Ajuda, 1349-017

Lisboa, Portugal.

Full telephone, Fax No. and E-mail address of the corresponding author*:

Tel: +351 213653424

Fax: +351 213653180

cms@isa.utl.pt

Influence of bio-energy crops root exudates on organic residues decomposition under Mediterranean conditions

Alves, T F, Cordovil, C M d S*, Basanta, R

Instituto Superior de Agronomia, TULisbon, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisbon,
Portugal,

* Corresponding author: cms@isa.utl.pt

ABSTRACT

The application of organic residues to soils is a means of restoring soil fertility by enhancing organic matter. Mineralization is affected by several factors, namely by root exudates which vary among species. The study of the influence of root exudates from herbaceous species Elephant Grass (*Pennisetum purpureum* L.), Giant Cane (*Arundo donax* L.) and Sugar Cane (*Saccharum officinarum* L.) and three woody species: Blue Gum (*Eucalyptus globulus* L), Black Cottonwood (*Populus trichocarpa* Torr. & Gray) and Willow (*Salix salviifolia* ssp) in organic residues mineralization was performed in the experimental field Bioenergisa. Composted municipal solid waste (MSW) and fresh poultry manure (PM) were tested by an *in situ* incubation using the litter-bag method in randomized plots. The levels of three enzyme activities related to de C, N and P cycles were compared in vegetated plots and in bare soil, by taking samples at 30, 90 and 180 days after setting date. Destructive samples of residues and soil from the rhizosphere were analyzed. The contribution of the MSW and PM on soil N under the different covers conditions was similar in both residues but the improvement in enzyme activities was more evident in soils with fresh residue. The herbaceous species and the woody Willow had the best performances for organic mineralization in soil around litter-bags, but the effectiveness on mineralization of the organic residues inside the litter-bags was better for the group of the woody species whit more influence to stimulate metabolic activity and P cycle while the group of herbaceous was more efficient for N cycle. The successful species were Giant Cane, Blue Gum and Willow.

Key words: Rhizosphere; Root exudates; Bio-energy crops; Organic residues; Litter-bags; Enzyme activities.

INTRODUCTION

Portugal is the South European country with the largest area covering low quality soils (66%) and with a high actual and potential erosion risk: 30% and 68% respectively (Giordano *et al.*, 1992). This concern became a critical issue in the Mediterranean area, namely in Southern Portugal due the climate conditions, the low soil organic matter levels and the unsuitable traditional agricultural practices background (Cordovil, 2003, unpublished data; Ros *et al.*, 2003). In these soils there is a need to restore soil fertility (Lal, 2006). On the other hand, many organic wastes could be recycled through application to agricultural land as a source of soil amendment to enhance the future crop production by improving soil quality. Soil application represents an effective outlet for different organic residues as it improves the biological and biochemical soil properties, and the role of soil organisms maintaining soil fertility with the subsequent impact in their productivity is well known (Nannipieri *et al.*, 1990; Albiach *et al.*, 2000; Dilly *et al.*, 2001). The metabolic activity of the microorganisms is stimulated in the rhizosphere which encompasses the millimetres of soil surrounding a plant root where complex biological and ecological processes occur (Bais *et al.*, 2006). The rhizosphere plays an important role in soil ecology due plant root release of an enormous spectrum of organic compounds more complex than those occurring above the soil surface (Bais *et al.*, 2004). Since root exudates have the capacity to stimulate the microbial activity they speed up nutrient recycling from organic matter (Grayston *et al.*, 1996; Baudoin *et al.*, 2003; Kuzyakov *et al.*, 2007).

The mechanism of root effects on the intensity of organic matter decomposition is a controversial issue and some hypotheses have been given to enlighten relationships between plant roots and soil biomass. In general, it can be said that roots may have dual and counteracting effects on soil microbial activities and thereby organic matter decomposition (Cheng and Kuzyakov, 2005). Furthermore, metabolic activity of the biomass depends on the quality and nature of organic matter, the age of the plant, the soil type and climate. Therefore, plant species can significantly alter microbial communities and their function in the soil ecosystem, affecting several processes as nitrogen mineralization and pH- and redox-potential (Kourtev *et al.*, 2003; Hartmann *et al.*, 2008). Root exudates composition varies quantitatively and qualitatively according to plant species and the specific needs of each one (Van der Krift *et al.*, 2001; Warenbourg *et al.*, 2003; Valé *et al.*, 2005). Root exudation originates in the diffusion

of root solutes from the cytosol into the soil solution (Nguyen, 2003). Rhizosphere microbial activity is thus expected to be higher in plant species that have a high concentration in root solutes a rapid growth and a small amount of root structural C, which may limit the passive diffusion of exudates through the root tissue (Nardi *et al.*, 2000; Valé *et al.*, 2005).

Considering that each plant exude different compounds, according to its adaptive features, will be expected to influence the rhizosphere microbial activity differently. Thus the aim of this study will try to observe these different dynamics, using six species of bio-energy plants, three woody and three herbaceous, through its influence on the mineralization of two different types of residues, composted MSW and PM in a Vertisol under Mediterranean climate, and, from results, try to establish patterns of behavior between herbaceous and woody species.

MATERIAL AND METHODS

2.1. Experimental site, soil and organic residues

Our aim was to evaluate the effect of root exudates from different plant species in the mineralization of organic residues buried in a Vertisol under Mediterranean climatic conditions. Different species were considered: three C4 herbaceous species Elephant Grass (*Pennisetum purpureum* L.), Giant Cane (*Arundo donax* L.) and Sugar Cane (*Saccharum officinarum* L.) and three woody species: Blue Gum (*Eucalyptus globulus* L), Black Cottonwood (*Populus trichocarpa* Torr. & Gray) and Willow (*Salix salviifolia* ssp).

The trial was conducted from January 29, 2009 to August 1, 2009 at the “Bioenergisa Experimental Station” of the Instituto Superior de Agronomia Technical University of Lisbon, Portugal. The 5x6 and 2x5 m experimental plots were settled on a Vertisol (FAO) with clay-loam texture and mineral nitrogen content of 14.7 mg kg⁻¹, which other main chemical characteristics at the different experimental plots are in Table 1. Residues used were composted municipal solid waste (MSW) from Valorsul, Portugal and poultry manure (PM) from Aviava, Portugal. Chemical composition for both residues is listed in Table 2.

2.2. Plot design and “in situ” incubation

The select methodology was the *in situ* incubation of the residues by the litterbag technique, according to an Organization for Economic Co-operation and Development (OECD, 2006) modified procedure. Batches of 60 g of each organic residue tested were placed inside 13.5 cm x 19 cm nylon mesh litterbags which were buried at 5-10 cm near plant roots of each one of the six species, according with a randomized block design. Replicates were enough to take three destructive samples per treatment at 30, 90 and 180 days after burial. Litter bags with the same residues were also buried in a control plot without plants (bare soil), enough to allow the same triplicate destructive sampling at the same dates.

Soil samples, from the vicinity of litterbags, are collected at 90 and 180 days.

2.3. Sample preparation and analysis

Soil and organic residues characterization was performed: pH (H₂O), P and K by Engner-Riehm extraction in soil samples and by calcination with 3N HCl digestion for residues, total N by Kjeldahl method (ISO/DIS 5663, 1982; Santos, 1987) and organic matter by calcination in a muffle furnace at 450 °C.

At each sampling date, litter-bags were air dried in the laboratory (three days at 25°C) and cleaned in the outside with a brush. Samples were then removed from the bag, brayed in an electric mill and analysed for microbial activity to allow assessment of mineralization levels.

2.3.1. Microbial activity

The activity of three enzyme related to the C, N and P cycles, dehydrogenase and two hydrolases (urease and phosphatase) were determined in the residues inside the litter-bags and in the soil close by the rhizosphere. Dehydrogenase, a broad spectrum of biological activity assay, was determined according to the method of Tabatabai (1997) modified to organic residues. Urease activity was estimated by incubating organic residue samples with an aqueous urea solution and extracting the NH₄⁺ with 1M KCl and 0.01 M HCl followed by colorimetric NH₄⁺ determination by a modified indophenol reaction (Kandeler and Gerber, 1988). Phosphatase was determined according to Tabatabai and Bremmer (1969). This group of enzymes is capable of catalysing hydrolysis of esters and anhydrides of phosphoric acid.

2.3.2. Inorganic nitrogen

Five g of soil were collected just below the bag sample at each sampling date. Soil samples were shaken for 1 hour 2 M KCl solution (Mulvaney, 1996) at room temperature, centrifuged and mineral N content ($\text{NH}_4\text{-N}$ and $\text{NO}_3\text{-N}$) was determined by segmented flow spectrophotometry.

2.4. Statistical analyses

A two way normality test was made for all parameters prior to variance analyzes. Data was tested by ANOVA and F statistics, Tukey's minimum significant difference test was used to differentiate the means. The Pearson's correlation coefficients between properties were calculated using the SPSS 13.0 statistical software 7 package.

RESULTS

3.1. General metabolic activity in the organic residues

Dehydrogenase (DH-ase) activity in the residues during the experiment can be observed in Fig.1. While DH-ase activity in the plots treated with MSW compost in all plots ranged between 0.19-20 $\mu\text{g TPF g}^{-1} \text{ dm h}^{-1}$ in PM residue values were considerably higher and ranged between 19-500 $\mu\text{g TPF g}^{-1} \text{ dm h}^{-1}$. Difference in metabolic activity was already present at setting time (5.4 and 19.0 $\mu\text{g TPF g}^{-1} \text{ dm h}^{-1}$ respectively for MSW and PM). In general, DH-ase activity in MSW decreased from setting date to the first sampling at 30 days and increased between this date and the end of the incubation at 180 days. On the contrary, PM showed a flush of activity at day 30 and decreased between this date and the end of the experiment. Between day 30 and day 180, DH-ase activity in MSW compost showed an overall increase in metabolic activity over 20 to 40 times during all incubation, contrary to PM which decreased over 2 to 10 times in the same period. Analysis of the tendency between both species groups showed that at day 30 no significant differences inter-species were found in plots with MSW except for the herbaceous Giant Cane with significantly higher metabolic activity. PM application led to significant differences inter-species (Fig. 1). PM buried in woody species and again Giant Cane plots, had significantly ($p < 0.05$) higher DH-ase activity than the rest of the herbaceous species plots. Similar trend was found at 90 days of incubation (despite of the significant decrease in the activity in the plots with PM). Again, MSW from the Giant Cane plots had significant ($p < 0.05$) high DH-ase level and now the woody

Willow too. The same did not occur with PM residue buried where only in Blue Gum plots was significantly ($p < 0.05$) higher level than the bare soil. At the end of incubation DH-ase activity showed the same levels inter-species (Fig. 1) in both of plant groups, the woody and the herbaceous, without significant differences with the bare soil.

3.2. Urease activity in the organic residues

Urease (U-ase) activity values ranged 0.1 to 2 $\mu\text{mol NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ dm h}^{-1}$ in MSW compost and a slight increase was found in PM residue which ranged between 0.7-9 $\mu\text{mol NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ dm h}^{-1}$. This enzyme activity also responded to the burial and, like DH-ase enzyme, showed depletion after 30 days, compared to initial residue in MSW (Fig. 2). Nevertheless, while in DH-ase enzyme the initial level was exceeded after 180 days, in U-ase enzyme it not was reached during the overall incubation (Fig. 2). Initial PM had lower U-ase activity than MSW (1.59 and 0.69 $\mu\text{mol NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ dm h}^{-1}$ respectively) and the early increase after burial was maintained thorough the incubation test (Fig. 2). Woody Black Cottonwood and the herbaceous Giant Cane had the highest influence in U-ase activity at 30 and 90 days in MSW compost (Fig. 2) and, at both incubation times all species promoted significantly higher activity than bare soil ($p < 0.05$). At the end of the incubation there was significant increase ($p < 0.05$) of the U-ase activity (over 1 and 6 times) in all herbaceous plots, the woody Willow and the bare soil plots, but no statistically significant differences were found inter-species as well as with the bare soil. In the plots with PM, again Giant Cane and other herbaceous species, Elephant Grass, had the best significant ($p < 0.05$) influence on PM activity at day 30 (Fig. 2). At days 90 and 180 this trend changed dramatically because all species had lower significant levels ($p < 0.05$) than the bare soil.

3.3. Phosphatase activity in the organic residues

Figure 3 shows the phosphatase (P-ase) activity during the experiment. While MSW compost activity values ranged 0.4 to 1.07 $\mu\text{mole p-Nitrop g}^{-1} \text{ dm h}^{-1}$, P-ase activity in plots with PM ranged 8.17 to 24.34 $\mu\text{mole p-Nitrop g}^{-1} \text{ dm h}^{-1}$, i.e., 20 times more. As observed for DH-ase and U-ase activities, time influence was different for each residue. In MSW, initial level of P-ase activity was maintained after burial and not significantly different after 30 days, in woody species plots and in some herbaceous, but not in bare soil which had a slight depletion. At 90 days, P-ase levels of MSW were maintained in woody plots except in Black Cottonwood and all the herbaceous species which had

significant ($p < 0.05$) decrease. At the end of the incubation no initial levels were reached in P-ase with the exception of Willow rhizosphere which promoted relatively constant activity during all incubation. Evolution of P-ase activity in PM showed a similar trend as U-ase enzyme with an early increase after burial and up to 90 days. At 180 days only in the woody Blue Gum and the herbaceous Giant Cane plots, PM had significant higher levels of P-ase than at setting time, as well as in the bare soil.

3.4. Enzyme activity in the soil from the rhizosphere

In soil samples taken from the rhizosphere just below each bag, initial DH-ase ranged between 1.50-2.93 $\mu\text{g TPF g}^{-1} \text{ dm h}^{-1}$ and U-ase between 3.74-6.76 $\mu\text{mol NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ dm h}^{-1}$. The plots with woody plants showed the maximum significant levels except Willow. Moreover, the herbaceous Giant Cane and the bare soil plots had significantly higher levels for U-ase and DH-ase respectively. P-ase activity ranged 0.65 to 1.14 $\mu\text{mole p-Nitrop g}^{-1} \text{ dm h}^{-1}$ and was again significantly ($p < 0.05$) higher in plots with woody plants. Willow plots soil had the maximum level followed by Blue Gum (Fig. 6). Burial of litter-bags with organic residues improved DH-ase in soils under vegetation there was a lower initial activity, namely in herbaceous species and woody Willow plots. Bare soil and the woody Black Cottonwood led to significant decrease ($p < 0.05$) in soil DH-ase activity at 90 days, but at 180 days levels became similar or higher than vegetated soils. For this reason, neither woody nor herbaceous promoted significantly ($p < 0.05$) better metabolic activity than the bare soil in plots with MSW at the end of the incubation. When PM was buried in herbaceous and woody Willow plots, activity was significantly higher than in bare soil at 90 and 180 days. U-ase activity always increased in soils woody species after the burial of the litter-bags with irregular results between species. In general, when PM was buried in woody plots, activity was greater than in bare soil at the end of the incubation, and the Blue Gum was the species with the highest U-ase activity; but when MSW was buried in both herbaceous and woody plots no significant differences were found with bare soil. On the contrary, a broad decrease in P-ase activity was found in soils close to litter-bags and no significant differences were found in plots where MSW was buried, at 90 days. Under Blue Gum crop significantly higher activity was found at 180 days. In plots with PM bags, the woody group promoted a greater enhancement in activity than the rest of the species at 90 days. At the end of the incubation in plots with PM, significant differences ($p < 0.05$) in P-ase

activity were found between the vegetated and the bare soil. Those under Blue Gum and Willow had the maximum levels probably due the highest initial values.

3.5. Nitrogen evolution in rhizosphere soil

No significant differences were found between mineral N concentrations in soils in the rhizosphere near MSW or PM buried samples, but significantly ($p < 0.05$) higher concentrations were found in both residues vicinity at day 90, compared to day 180. No correlations were obtained between mineral N and U-ase activity in soils with MSW compost. Nevertheless, significant ($p < 0.01$) positive correlations were found at 90 days in soils with PM ($r = 0.488$).

3.6. Weight losses in the litter-bags

The weight loss analysis (fig. 7) in the litterbags is another demonstration of the higher rate of PM mineralization. The bags that contained this residue showed a weight loss of two to five times higher than in bags with MSW, for all periods.

DISCUSSION

General metabolic DH-ase, U-ase and P-ase activities in MSW compost showed an initial depletion (Figures 1 and 3) as a conversion period in soil environment. Only at the end of the incubation (180 days) the activity levels were close to initial, but while general metabolic activity exceeded initial values, U-ase and P-ase activities never reached initial levels during incubation. This could be due to soil conditions during the 2nd and 3rd months of incubation (30-90 days) with soil moisture averaging 70% of total field capacity in soil (Lisbon Meteorological Institute, 2009). Vertisols are susceptible to flooding and anaerobic conditions restrict microbial activity and enlarge denitrification which could have been the case in some plots. This soil environment could have limited the root exudates effects but lack of oxygen may trigger facultative anaerobes to initiate metabolic processes involving dehydrogenase activities, so, Makoi and Ndakidemi (2008) showed that DH-ase was greater in flooded compare to non-flooded soils, as a result of a decreased re-dox potential after flooding. At the end of the incubation no significant differences were found between vegetated and bare plots in enzyme activities, therefore, no competitive relationship could be expect between roots and microbes in vegetated plots with MSW.

When PM residue was tested, the activity of the three enzymes studied, increased and in general exceeded the original values (Figs. 1, 2, 3). Anaerobic conditions appeared to have not affected microbial activity in this residue during the 2nd month of incubation, so, in plots with PM, some rhizosphere microorganisms or the exudates themselves, could have adapted or improved by the lack of oxygen. Nevertheless, microbial activity showed an irregular behavior and, at the end of the incubation (180 days), no significant higher values were found comparing with the bare soil. This fact could be explained by competition for N and P availability between roots and microbes in vegetated plots as Grayston *et al.* (1996) reported for increased rate of denitrification where a large organic carbon supply was combined with low oxygen pressure in the rhizosphere, and this was the situation for PM residue. Furthermore, polyphenols have been considered as inhibitory of the urease activity (Benítez *et al.*, 2000) and PM had a notable content (20 %) while in MSW residue was 4.3 % (Table 2). This emphasises the importance of residue characteristics and microbial community present. On the other hand, the opposite behaviour between residues was expected, given the fresh and composted characteristics, mainly the rate in biological activity, the C/N ratio, lignin content and lignin/N ratio which can be considered as an index for biodegradability (Tab. 2). MSW was a composted residue and therefore with more stable organic matter, with a slow decomposition rate and lower biological activity. The lack of correlations between mineral N and DH and U-ase activities in soils close the bags supported this fact, as well as the lower weight loss compare with PM. Therefore, low metabolic activity was expected especially in the early stages of the incubation. Moreover, a high concentration of salts in the litter-bags could have disturbed biological activity (Zaccheoa *et al.*, 2002) as pointed out by the absence of roots inside MSW bags. PM residue has a fast initial nitrogen mineralization which is frequent in residues with C/N rate near 20, and increases soil NO₃-N content, which inhibits DH-ase activity (Casida *et al.*, 1964). Furthermore, the long-rate in biological activity and the potential changes in microbial communities as well as the easily mineralize substrates in PM residue with the subsequent immobilization of the organic forms of N in the microbial biomass cells which could not be available till their death, can explain the abrupt depletion in DH-ase activity between days 90 and 180. Moreover, positive correlations between mineral N and U-ase activity were found at 90 days but not at 180.

Results showed different enzymatic activity behaviour in the two residues tested in the ryzosphere of the two groups of woody and herbaceous plants. Woody species,

except Black Cottonwood, favoured the general metabolic activity and the phosphorus (P) deliver in both residues. The latter species was the only woody which showed similar performance as herbaceous group, improving these parameters in PM residue. Another exception was the herbaceous Giant Cane which promoted MSW general metabolic activity. Furthermore, N mineralization was favoured by the presence of herbaceous species in both residues and for the woody only in PM. One more time, Black Cottonwood was the only woody which showed similar performance as herbaceous group. Herbaceous species and Black Cottonwood revealed a higher demand of metabolic substrate in a shorter term, as they have a shorter growing season. This could explain the higher activity of all enzymes in PM in herbaceous species plots. On the other hand, root exudates could have promoted this greater activity, together with the more easily mineralizable nature of PM. Finally, results allow settle patterns in the performance between groups of plants. The group of the woody promoted significantly higher levels than herbaceous for the three studied activities in the initial soil from the rhizosphere. They also had a greater influence in the general metabolic activity and the P cycle over the residues in the litter-bags. In the soil from the rhizosphere, this was observed for P cycle but not for general metabolic in plots with PM where only the woody Willow and the group of herbaceous had better performance than the bare soil.

However, individual species from each group had a particular behavior and then the herbaceous Giant Cane appeared to be successful for the three activities. This plant is considered an invasive species in Mediterranean regions with high growth rates, especially in damp places (Weber, 2003). The group of woody species is well adapted to damp places too, so, species from this group were very efficient, mainly Blue Gum and Willow. The significant ($p < 0.01$) positive correlations ($r = 0.365$ and $r = 0.393$ respectively for MSW and PM residue) between DH-ase activity in soil from rhizosphere and in residues from the litter-bags at 180 days of incubation confirmed non competitive relationships between microbial communities at the residues and at soils, and can support the idea that residues supplied microbial activity in soils around the litter-bags.

We can conclude that microbial activity of the Vertisol in the rhizosphere under Mediterranean conditions was improved with the burial of organic residues mainly in herbaceous species and the woody Willow. This improvement was more evident in soils amended with fresh residue (PM) than with composted MSW. Contradictory results

related with the effects of the maturity of organic wastes added to soil were reported (Cooper and Warman, 1997; Benítez *et al.*, 2000) with increase in DH-ase activity using composted manure and better results with fresh manure in others cases. Inside the litter-bags the opposite behaviour between residues suggested metabolic activity was affected by the degree of stability of the organic matter and the presence of root exudates. While in MSW at the end of the incubation no significant differences were found between vegetated and bare plots, PM in vegetated plots, had a lower activity than in bare soil due the rapid mineralization process improved by root exudates when crops were present, or by competition between roots and microbes or both combined effects. The efficacy on mineralization of the organic residues appeared to be better for the group of the woody species with more influence to stimulate metabolic activity and P cycle while the group of herbaceous was more efficient for N cycle. Giant Cane, Blue Gum and Willow influence of ryzosphere, thus root exudates, enhanced organic residues N mineralization in Vertisol under Mediterranean environment. Root exudates effects could have been minimized by other factors like edafic environment due the particular characteristics of the experimental soil or seasonal variability in enzyme activities. The relationship between root architecture and root exudation as well as the presence of endo and ectomycorrhizal could be another key factor to elucidate the possibility of the different patterns for the woody and the herbaceous species behaviour.

REFERENCES

- Albiach, R., Canet, R., Pomares, F., Ingelmo, F., 2000. Microbial biomass content and enzymatic activities after the application of organic amendments to a horticultural soil. *Bioresource Technology* 75, 43-48.
- Bais, H.P., Park, S.W., Weir, T.L., Callaway, R. M., Vivanco, J. M., 2004. How plants communicate using the underground information superhighway. *Trends in Plant Science* 9, 26-32.
- Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S., Vivanco, J. M., 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology* 57, 233-266.
- Baudoin, E., Benizri, E., Guckert, G., 2003. Impact of artificial root exudates on the bacterial community structure in bulk soil and maize rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 1183-1192.

368 Benítez, E., Melgar, R., Sainz, H., Gómez, M., Nogales, R., 2000. Enzyme activities in
369 the rhizosphere of pepper (*Capsicum annuum*, L.) grown with olive cake mulches Soil
370 Biology and Biochemistry 32, 1829–1835.
371

372 Casida, L. J., Klein, D., & Santoro, T., 1964. Soil dehydrogenase activity. Soil Science,
373 98, 371-376.

374 Cheng, W. and Kuzyakov, Y. 2005. Root effects on soil organic matter decomposition.
375 In: Zobel, R.W., S.F. Wright (Eds.), Roots and Soil Management: Interactions between
376 Roots and the Soil. Agronomy Monograph 48, 119-143.
377

378 Cooper, J.M., Warma, P.R., 1997. Effects of three fertility amendments on soil
379 dehydrigenase activity, organic C and pH. Canadian Journal of Soil Science 77, 281-
380 283.

381 Dilly, O., Bartsch, S., Rosenbrock, P., Buscot, F., Munch, J. C., 2001. Shifts in
382 physiological capabilities of the microbiota during the decomposition of leaf litter in a
383 black alder (*Alnus glutinosa* (Gaertn.) L.) forest. Soil Biology and Biochemistry 33,
384 921-930.

385 Giordano, A., Bonfils, P., Roquero, C., Yassoglou, N., Sequeira, E., Briggs, D., et al.,
386 1992. Soil Erosion Risk and Important Land Resources in the Southern Regions of the
387 European Community. *CORINE* .

388 Grayston, S. J., Vaughan, D., Jones, D., 1996. Rhizosphere carbon flow in trees, in
389 comparison with annual plants: the importance of root exudation and its impact on
390 microbial activity and nutrient availability. Applied Soil Ecology 5, 29-56.

391 Hartmann, A., Schmid, M., van Tuinen, D., Berg, D., 2009. Plant-driven selection of
392 microbes. Plant and Soil 321, 235-257.

393 Kandeler, E., Gerber, H., 1988. Short-term assay of urease activity using colorimetric
394 determination of ammonium. Biology and Fertility Soils 6, 68-72.

395 Kourtev, P. S., Ehrenfeld, J. G., Häggblom, M., 2003. Experimental analysis of the
396 effect of exotic and native plant species on the structure and function of soil microbial
397 communities. Soil Biology and Biochemistry 35, 895-905.

398 Kuzyakov, Y., Hill, P. W., Jones, D. L., 2007. Root exudate components change litter
399 decomposition in a simulated rhizosphere depending on temperature. Plant and Soil
400 290, 293-305.

401 Lal, R., 2006. Enhancing crop yields in the developing countries through restoration of
402 the soil organic carbon pool in agricultural lands. Land Degradation and Development
403 17, 197-200.

404 Lisbon Meteorological Institute, 2009. *Boletins Climatológicos*. Instituto de
405 Meteorologia: <http://www.meteo.pt>

406 Makoi, J., Ndakidemi, P., 2008. Selected Soil Enzymes: Examples of their potencial
407 roles in the ecosystem. *African Journal of Biotechnology* 7, 181 - 191.

408 Mulvaney, R.L. 1996. Nitrogen–Inorganic forms. In: Sparks, D.L. (Eds), *Methods of*
409 *soil analysis*. Part 3. SSSA Book Ser. 5. Madison, WI: SSSA, pp1123-1184.

410 Nannipieri, P., Greco, S., Ceccanti, B., 1990. Ecological significance of biological
411 activity in soil. In: Bollag, M., Stozky, G. (Eds), *Soil Biochemistry*, vol 6. Dekker, New
412 York, pp 293-355.

413 Nardi, S., Concheri, G., Pizzeghello, D., Sturaro, A., Rella, R., Parvoli, G., 2000. Soil
414 organic matter mobilization by root exudates. *Chemosphere* 41, 653-658.

415 Nguyen, C., 2003. Rhizodeposition of organic C by plants: mechanisms and controls.
416 *Agronomie* 23, 375-396.

417 OCDE., 2006. Guidance Document on the Breakdown of Organic Matter in Litter Bags
418 56. Paris: OCDE.

419 Ros, M., Hernández, M. T., García, C., 2003. Soil microbial activity after restoration of
420 a semiarid soil by organic amendments. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 463-469.

421 Tabatabai, M.A. 1997. Soil enzymes. In: Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (Eds),
422 *Methods of Soil Analysis*. Part 2. A.S.A., S.S.S.A., Madison, Wisconsin, U.S.A. pp:
423 903-947.

424 Tabatabai, M. A., Bremner, J. M., 1969. Use of p-nitrophenylphosphate for assay of
425 soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry* 1, 301-307.

426 Valé, M., Nguyen, C., Dambrine, E., Dupouey, J., 2005. Microbial activity in the
427 rhizosphere soil of six herbaceous species cultivated in a greenhouse is correlated with
428 shoot biomass and root C concentrations. *Soil biology and biochemistry* 37.

429 Van der Krift, T. A., Berendse, F., 2001. The effect of plant species on soil nitrogen
430 mineralization. *Journal of Ecology* 89, 555-561.

431 Warembourg, F. R., Roumet, C., Lafont, F., 2003. Differences in rhizosphere carbon-
432 partitioning among plant species of different families. *Plant and Soil* 256, 347-357.

433 Weber, E., 2003. *Invasive plant species of the world: a reference guide to environmental*
434 *weeds*, CABI Publishing, Wallingford, 548 pp.

435 Zaccheoa, P., Cabassia, G., Riccab, G., Crippaa, L., 2002. Decomposition of organic
436 residues in soil: experimental technique and spectroscopic approach. *Organic*
437 *Geochemistry* 33, 327-345.

LIST OF TABLES AND FIGURES

Table 1 Chemical characteristics of the Vertisol under the different plant covers

Table 2 Chemical characteristics of the organic residues tested

Fig.1 DH-ase activity in woody and herbaceous species in plots with MSW and PM. Small letters represents significant differences ($p < 0.05$) thorough the incubation test for each species and capital letters the significant differences ($p < 0.05$) between species in each time. Values are de means (\pm SD) of three replicate samples. BG: Blue Gum; BC: Black Cottonwood; W: Willow; EG: Elephant Grass; GC: Giant Cane; SC: Sugar Cane; BS: Bare Soil.

Fig.2 U-ase activity in woody and herbaceous species in plots with MSW and PM. Small letters represents significant differences ($p < 0.05$) thorough the incubation test for each species and capital letters the significant differences ($p < 0.05$) between species in each time. Values are de means (\pm SD) of three replicate samples. BG: Blue Gum; BC: Black Cottonwood; W: Willow; EG: Elephant Grass; GC: Giant Cane; SC: Sugar Cane; BS: Bare Soil

Fig.3 P-ase activity in woody and herbaceous species in plots with MSW and PM. Small letters represents significant differences ($p < 0.05$) thorough the incubation test for each species and capital letters the significant differences ($p < 0.05$) between species in each time. Values are de means (\pm SD) of three replicate samples. BG: Blue Gum; BC: Black Cottonwood; W: Willow; EG: Elephant Grass; GC: Giant Cane; SC: Sugar Cane; BS: Bare Soil

Fig.4 DH-ase activity in soil samples in woody and herbaceous species in plots with MSW and PM. Small letters represents significant differences ($p < 0.05$) thorough the incubation test for each species and capital letters the significant differences ($p < 0.05$) between species in each time. Values are de means (\pm SD) of three replicate samples. BG: Blue Gum; BC: Black Cottonwood; W: Willow; EG: Elephant Grass; GC: Giant Cane; SC: Sugar Cane; BS: Bare Soil

Fig.5 U-ase activity in soil samples in woody and herbaceous species in plots with MSW and PM. Small letters represents significant differences ($p < 0.05$) thorough the incubation test for each species and capital letters the significant differences ($p < 0.05$) between species in each time. Values are de means (\pm SD) of three replicate samples. BG: Blue Gum; BC: Black Cottonwood; W: Willow; EG: Elephant Grass; GC: Giant Cane; SC: Sugar Cane; BS: Bare Soil

Fig.6 P-ase activity in soil samples in woody and herbaceous species in plots with MSW and PM. Small letters represents significant differences ($p < 0.05$) thorough the incubation test for each species and capital letters the significant differences ($p < 0.05$) between species in each time. Values are de means (\pm SD) of three replicate samples. BG: Blue Gum; BC: Black Cottonwood; W: Willow; EG: Elephant Grass; GC: Giant Cane; SC: Sugar Cane; BS: Bare Soil

Fig.7 Weigth lost in litterbags

62 **Table 1**

Plant cover	pH	%		mg kg ⁻¹	
		Total N	C/N	P	K
Blue Gum	8.00	0.15	19.2	299.2	208
Black Cottonwood	8.11	0.14	20.6	182.9	199
Willow	7.86	0.14	20.6	212.6	210
Elephant Grass	8.29	0.14	20.6	306.9	205
Giant Cane	8.31	0.14	20.6	288.8	200
Sugar Cane	8.14	0.14	20.6	235.6	200
Bare soil	8.19	0.15	19.2	265.9	212

63

64

65

66

67

68

69

70

71

72

73

74

75

76

77

78

79

80

81

82

83

84

85

86

87

88

89

90

91

92

93

94

95

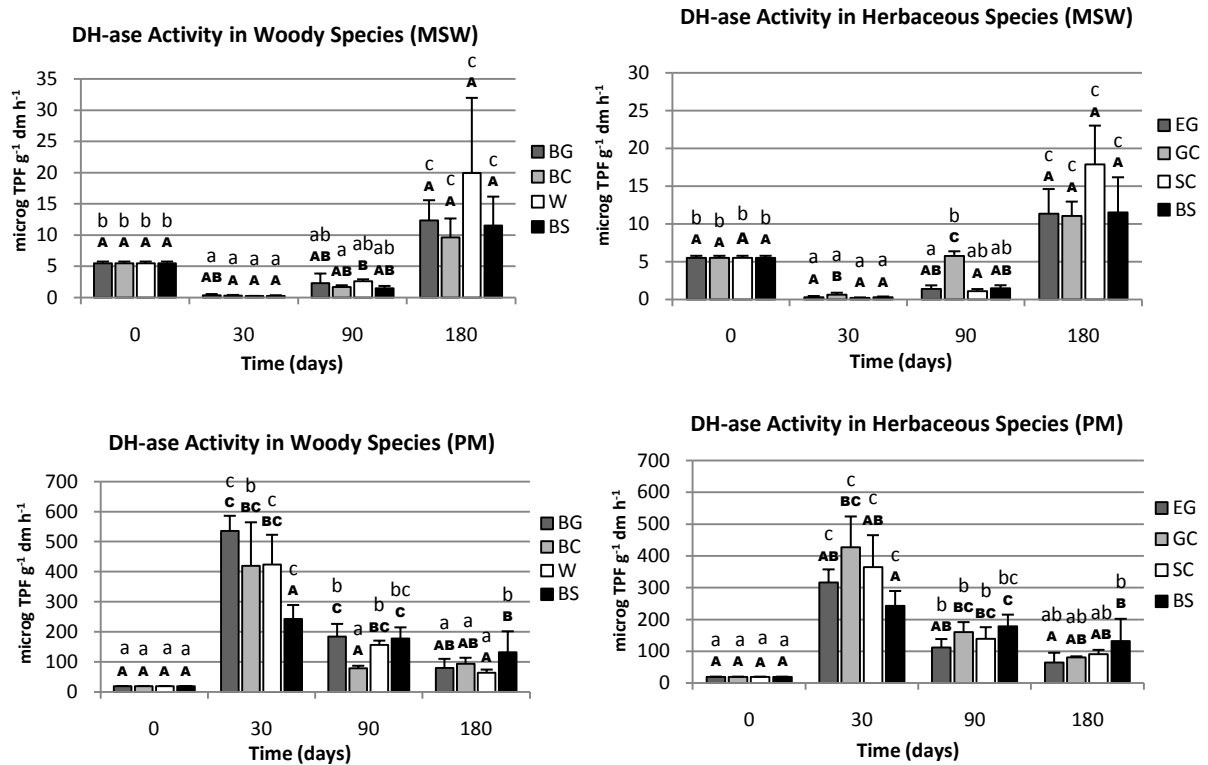
96

97

98

Table 2

Parameter	MSW	PM
pH (H ₂ O)	7.51	6.20
OM (mg 100g ⁻¹)	99	98
N _{total} (%)	2.12	3.53
C/N	47	28
P (g 100 g ⁻¹)	1.96 ± 0.02	1.46 ± 0.15
K (g 100 g ⁻¹)	0.04 ± 0.96	0.02 ± 0.12
Fat, oils, waxes, etc. (% weight)	3.0	2.3
Simple sugars and water-soluble polyphenols (% weight)	4.3	20.0
Primarily cellulose (% weight)	46.3	60.6
Lignin (% weight)	46.5	11.3
Lignin/N	22.17	3.20



157 **Figure 2**

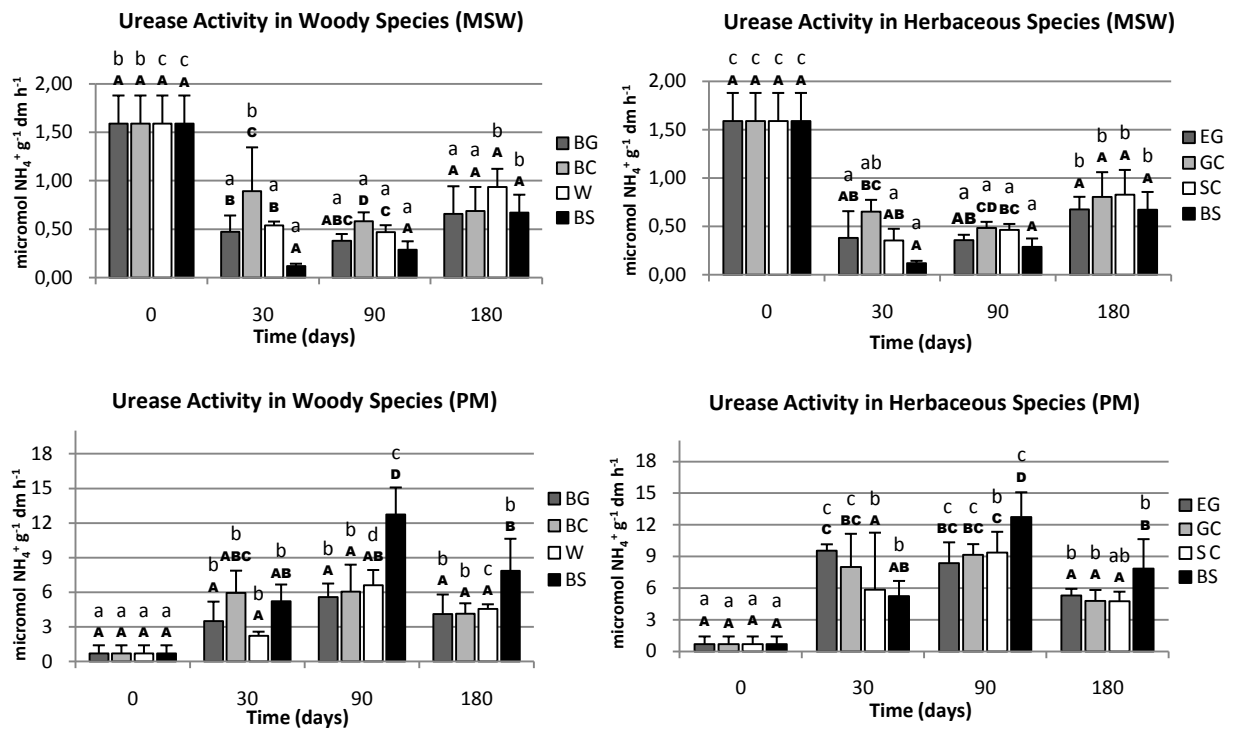
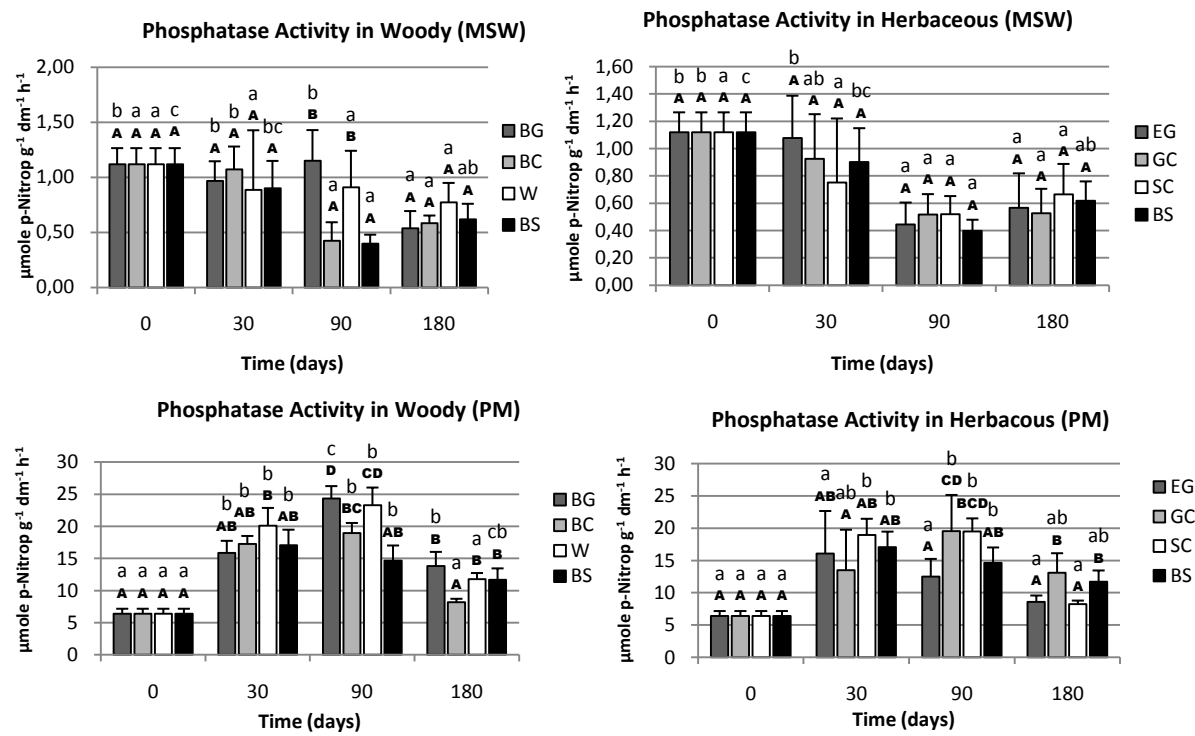
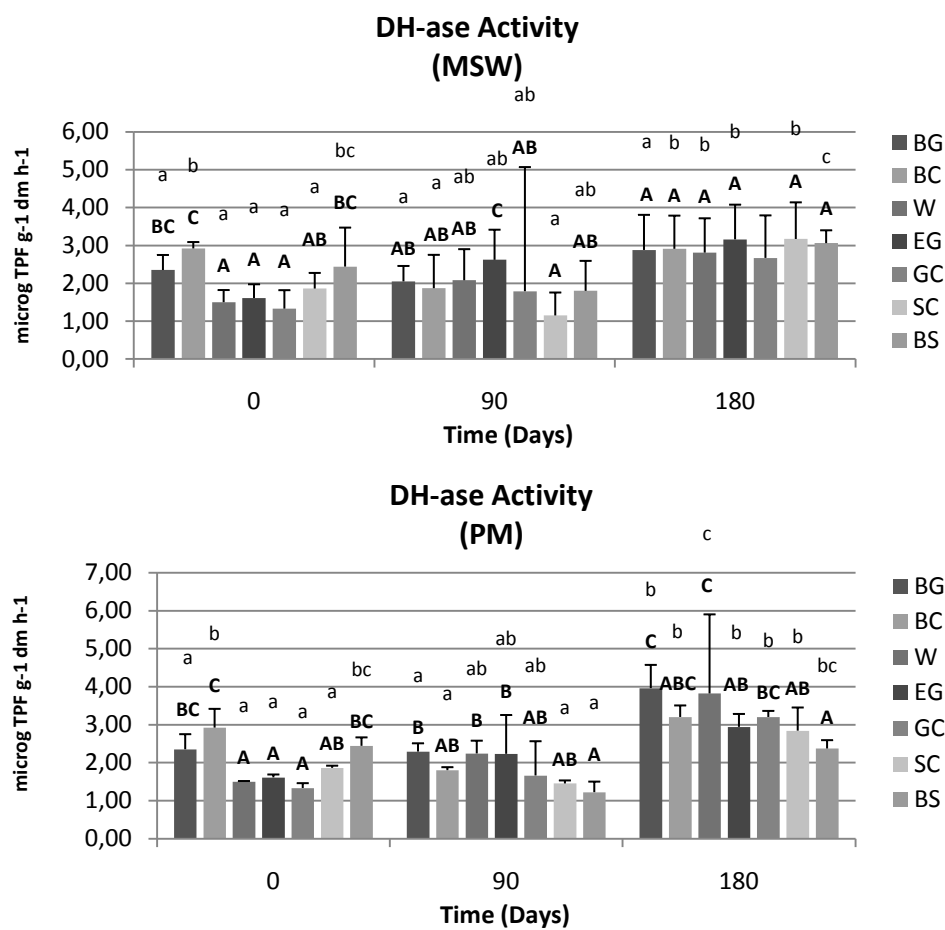
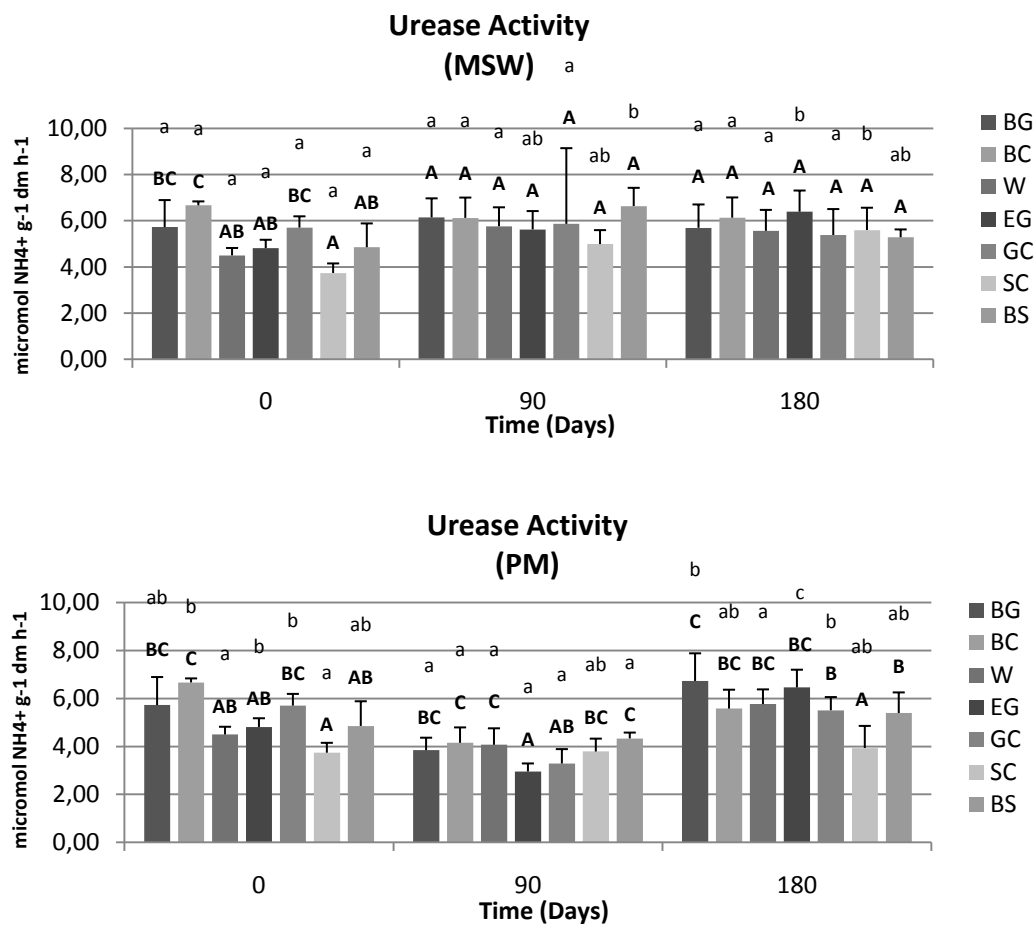


Figure 3

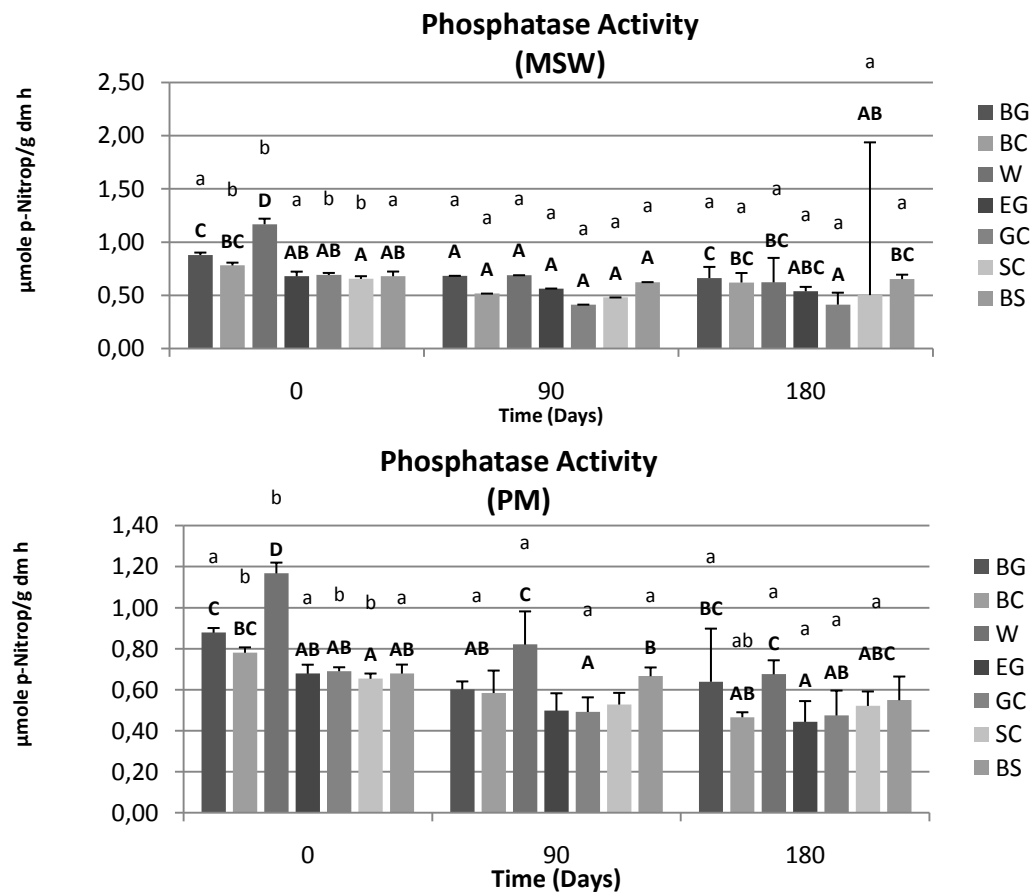


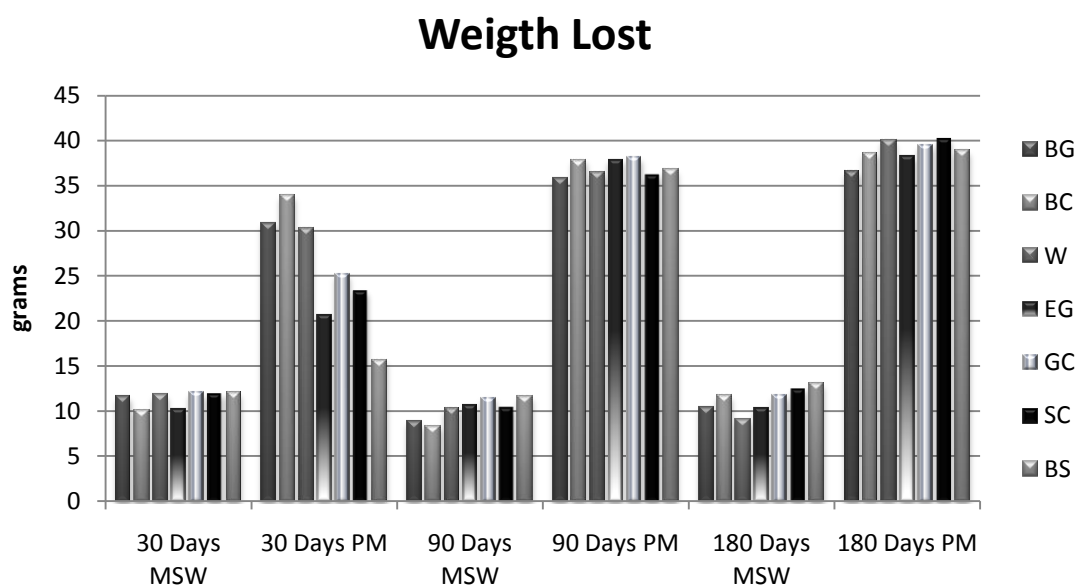
210 **Figure 4**





262 **Figure 6**





4. CONCLUSÕES

1. As análises iniciais mostraram uma actividade enzimática 8 a 10 vezes superior no EA comparativamente com o composto de RSU. Com a evolução registada, nos tempos de amostragem seguintes, confirma-se uma mais rápida resposta da comunidade microbiológica no EA do que no RSU, onde parece existir um período relativamente longo de adaptação.
2. A estabilidade inerente ao RSU compostado com a sua natureza recalcitrante levou a uma lenta decomposição e baixa actividade metabólica, principalmente na primeira fase da incubação. A ausência de correlação entre o azoto mineral do solo e a actividade da urease confirma este facto, assim como a inexistência de correlações entre a actividade da desidrogenase e a perda de peso, que foi baixa. No final do último período do ensaio, apenas a actividade metabólica geral atingiu os níveis iniciais, e até excedeu em alguns casos.
3. O EA, sendo um resíduo rico em compostos orgânicos facilmente mineralizáveis, permitiu a sua rápida utilização pelos microrganismos, promovendo o aumento da população, acelerando a decomposição da matéria orgânica, o que foi confirmado pela existência de correlações entre a actividade da desidrogenase e a perda de peso dos sacos, que foi entre 2 a 5 vezes maior que para o RSU. O esgotamento desse mesmo substrato orgânico e a imobilização do azoto na biomassa microbiana levou a uma redução da comunidade de microrganismos e consequente diminuição da actividade metabólica. Este acontecimento foi observado aos 180 dias, onde não existiu correlação entre o azoto mineral nos solos da vizinhança dos sacos e a actividade da urease, ao contrário das correlações positivas observadas aos 90 dias.
4. As condições ambientais parecem ter impacto significativo na actividade enzimática, o encharcamento do solo verificado entre o 2º e o 3º mês poderá ter provocado a restrição da actividade da urease e da fosfatase e até a limitação da actividade dos exsudados radiculares. Este efeito foi evidente no caso do RSU mas não no EA, o que se pode ter devido à presença de uma comunidade microbiana mais restrita no primeiro resíduo (resultado de uma composição rica em lenhina e elevada razão C/N), tornando a actividade enzimática mais vulnerável a este factor. Confirma-se, assim, a interligação entre as características dos resíduos, os factores climáticos e a composição da comunidade microbiana como factores de elevada importância neste processo.

5. No final do tempo de incubação (180 dias), nas amostras de resíduos, enquanto no RSU não houve diferenças significativas entre as parcelas com vegetação e o solo descoberto, no EA as parcelas com vegetação tiveram actividades enzimáticas mais baixas devido a rápida mineralização nos tempos iniciais da incubação, mas também pode ter havido competição entre as raízes e os microrganismos pelo N e P disponíveis devido às condições de falta de oxigénio pelo encharcamento do solo. Estes factores podem ter favorecido a desnitrificação na presença de uma abundante e disponível fonte de C orgânico, o que teria com um efeito negativo na posterior disponibilidade desses nutrientes. Nas incubações com RSU e nas parcelas sem coberto vegetal, esta associação de factores não se verificou, no primeiro caso, por se tratar de uma fonte de C menos disponível no imediato e no segundo pela falta de raízes na ausência de vegetação.
6. A actividade microbiana aumentou na rizosfera do solo em condições climáticas mediterrânicas, nas parcelas em que tinham sido enterrados os resíduos orgânicos, especialmente no caso do EA. Este efeito foi particularmente visível nos talhões das herbáceas e da lenhosa Salgueiro, que apresentaram uma actividade metabólica inicial mais baixa que o resto das espécies estudadas.
7. A capacidade de mineralização dos resíduos foi maior para o grupo das espécies lenhosas, que tiveram maior facilidade para estimular a actividade metabólica e o ciclo do P do que as herbáceas. Uma eficiente associação raiz-micorrizas, nas lenhosas, não será alheia a este comportamento, bem como o papel desempenhado pela exsudação radicular nestas espécies. Para obterem fósforo as raízes exsudam directamente fosfatase ácida mas também compostos orgânicos que promovem a associação com micorrizas, que são bastante eficientes na mineralização do fósforo orgânico, para além de libertarem também fosfatase ácida. As herbáceas mostraram mais eficiência na mineralização do azoto, menos complexo do que o fósforo e mais rápida resposta face às necessidades impostas pela elevada taxa de crescimento destas espécies.
8. A herbácea Cana do Reino e as lenhosas Eucalipto e Salgueiro foram as espécies a nível individual que apresentaram melhores condições para influenciar a zona da rizosfera na promoção da mineralização dos resíduos orgânicos num Vertisol com clima de Mediterrâneo.

9. As características particulares dos Vertisolos podem ter minimizado os efeitos dos exsudados radiculares, assim como também a variabilidade sazonal que afecta as actividades enzimáticas dos microrganismos do solo.
10. As relações entre a arquitectura das raízes e a exsudação radicular, além da presença de endo e ectomicorrizas, são outros factores chave para o estabelecimento de padrões definitivos de comportamento entre herbáceas e lenhosas, mas que ficou fora do âmbito deste trabalho.

5. BIBLIOGRAFIA

Agência Portuguesa do Ambiente. 2008. *Relatório do Estado do Ambiente 2007*. Lisboa : Agência Portuguesa do Ambiente, 2008.

Bais, H. P., et al. 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Reviews on Plant Biology*. 2006, Vol. 57, pp. 233-266.

Beri, Viraj, Goswami, K. e Brar, S. 1978. Urease Activity an its Michaelis Constant for Soil Systems. *Plant and Soil*. 1978, Vol. 49.

Bertin, Cecile, Yang, Xiaohan e Weston, Leslie. 2003. The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. *Plant and Soil*. 2003, Vol. 256, pp. 67 - 83.

Bowen, Glynn e Rovira, Albert. 1991. The Rhizosphere. The Hidden Half of the Hidden Half. [autor do livro] Yoav Waisel, Amram Eshel e Uzi Kafafi. *Plant Roots. The Hidden Half*. New York : Dekker, 1991.

Cheng, Weuxub e Kuzyakov, Yakov. 2005. Root Effects on Soil Organic Matter Decomposition. *Agronomy Monograph*. American Society of Agronomy, 2005, Vol. 48, Roots and Soil Management: Interactions between Roots and the Soil.

Clapp, C. E., Hayes, M. H.B. e Ciavatta, C. 2007. Organic wastes in soils: Biogeochemical and environmental aspects. *Soil Biology and Biochemistry*. 2007, Vol. 39 (6), pp. 1239-1246.

Cordovil, C. M. d. S. 2003. Doutoramento em Engenharia Agronómica. *Previsão da disponibilidade de azoto para as plantas a partir da mineralização de resíduos orgânicos aplicados ao solo*. Lisboa : Instituto Superior de Agronomia - Universidade Técnica de Lisboa, 2003.

Dilly, O. e Munch, J. C. 1996. Microbial biomass content, basal respiration and enzyme activities during the course of decomposition of leaf litter in a black alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) forest. *Soil Biology and Biochemistry*. 1996, Vol. 28, pp. 1073-1081.

Dilly, O., et al. 2001. Shifts in physiological capabilities of the microbiota during the decomposition of leaf litter in a black alder (*Alnus glutinosa* (Gaertn.) L.) forest. *Soil Biology and Biochemistry*. 2001, Vol. 33, pp. 921-930.

Dinkelaker, B. e Marschner, H. 1992. In vivo demonstration of acid phosphatase activity in the rhizosphere of soil-grown plants. *Plant and Soil*. Kluwer Academic Publishers, 1992, Vol. 144.

Eichler, Bettina, et al. 2004. Soil acid and alkaline activities in regulation to crop species and fungal tratment. *Landbauforschung Volkenrode*. 2004, Vol. 54, pp. 1 - 5.

European Environment Agency. 2004. *IRENA Indicator Fact Sheet 23 - Soil Erosion*. 2004.

Gajdoš, R. 1998. Bioconversion of organic waste by the year 2010: to recycle elements and save energy. *Resources, Conservation and Recycling*. 1998, Vol. 23, pp. 67-86.

Giordano, Andrea, et al. 1992. Soil Erosion Risk and Important Land Resources in the Southern Regions of the European Community. *CORINE*. Commission of the European Communities, 1992.

Hutsch, Birgit W., Jurgen, Augustin e Merbach, Wolfgang. 2002. Plant rhizodeposition - an important source for carbon turnover in soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 2002, Vol. 165, pp. 397-407.

Instituto Nacional de Estatística. 2009. Produção Anual de Ovos por Tipo de Ovos. *Portal do Instituto Nacional de Estatística*. [Online] Instituto Nacional de Estatística, 2009. [Citação: 18 de Outubro de 2009.] http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000917&seITab=tab2.

Killham, Ken. 1996. *Soil Ecology*. Cambridge : Press Syndicate of the University of Cambridge, 1996. p. 42.

Lisbon Metheorological Institute. 2009. Boletins Climatológicos. *Instituto de Meteorologia*. [Online] Fevereiro, Março, Abril, Maio, Junho, Julho de 2009. [Citação: 30 de Setembro de 2009.] <http://www.meteo.pt>.

Makoi, Joachim e Ndakidemi, Patrick. 2008. Selected Soil Enzymes: Examples of their potencial roles in the ecosystem. *African Journal of Biotechnology*. Academic Journals, 2008, Vol. 7, Soil enzymes, pp. 181 - 191.

Marschner, Horst. 1995. The Soil Interface (Rhizosphere) in Relation to Mineral Nutrition. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Loddon, Norfolk : Academic Press, 1995.

Medina, João Manuel Bettencourt. 1993. *Os solos da tapada da ajuda sob utilização agrícola*. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa : Instituto Superior de Agronomia, 1993.
RELATORIO DA ACTIVIDADE DO ALUNO ESTAGIÁRIO DO CURSO DE ENGº AGRÓNOMO.

Nannipieri, P., Greco, S. e Ceccanti, B. 1990. Ecological significance of biological activity in soil. [ed.] J.M. Bollag and G. Stozky. *Soil Biochemistry*. 1990, Vol. 6.

OCDE. 2006. *Guidance Document on the Breakdown of Organic Matter in Litter Bags*. Paris : OCDE, 2006. Vol. 56, Series on Testing and Assessment.

Phillips, Richard e Fahey, Timothy. 2008. The Influence of Soil Fertility on Rhizosphere Effects in Northern Hardwood Forest Soils. *FOREST, RANGE & WILDLAND SOILS*. Soil Science Society of America, 2008, Vol. 72.

Pierret, Alain, et al. 2007. Root Functional Architecture: A Framework for Modeling the Interplay between Roots and Soil. *Vadose Zone Journal*. SCI Journals, 2007, Soil Biophysics.

Quilchano, Consuelo e Maraño, Teodoro. 2002. Dehydrogenase activity in Mediterranean forest soils. *Biol Fertil Soils*. Springer - Verlag, 2002, Vol. 32, pp. 102 - 107.

- Ros, M., Hernández, M. T. e García, C. 2003.** Soil microbial activity after restoration of a semiarid soil by organic amendments. *Soil Biology and Biochemistry*. 2003, Vol. 35, pp. 463-469.
- Santos, Quelhas. 2001.** Estrumes de aviário. [autor do livro] J. Quelhas dos Santos. *Fertilização & Ambiente*. Mem Martins : Europa-América, 2001.
- Santos, Quelhas. 1996.** O azoto no solo. [autor do livro] J. Quelhas dos Santos. *Fertilização. Fundamentos da utilização de adubos e correctivos*. Mem - Martins : Europa - América, 1996, pp. 47 - 48.
- Szogi, A. A. e Vanotti, M. B. 2009.** Prospects for phosphorus recovery from poultry litter. *Bioresource Technology*. 2009, Vol. 100, pp. 5461 - 5465.
- Valé, M, et al. 2005.** Microbial activity in the rhizosphere soil of six herbaceous species cultivated in a greenhouse is correlated with shoot biomass and root C concentrations. *Soil biology & biochemistry*. 2005, Vol. 37.
- van der Krift, T. A.J. e Berendse, F. 2001.** The effect of plant species on soil nitrogen mineralization. *Journal of Ecology*. 2001, Vol. 89, pp. 555-561.
- Varenes, Amarilis de. 2003.** *Propriedade dos Solos e Ambiente*. Lisboa : Escolar Editora, 2003.
- Warembourg, F. R., Roumet, C. e Lafont, F. 2003.** Differences in rhizosphere carbon-partitioning among plant species of different families. *Plant and Soil*. 2003, Vol. 256, pp. 347-357.
- Wood, Martin. 1995.** *Environmental Soil Biology*. Glasgow : Blackie Academic & Professional, 1995. pp. 34 - 142.

Anexos

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo I: Resultados dos testes de Homogeneidade de variância e da ANOVA	D
Quadro 1: Análise de significância entre espécies em cada período de tempo para a desidrogenase nas incubações com RSU	D
Quadro 2: Análise de significância entre cada espécie de planta em cada período de tempo para a desidrogenase nas incubações com EA.....	D
Quadro 3: Análise de significância entre cada período de tempo em cada espécie de planta para a desidrogenase nas incubações com RSU	D
Quadro 4: Análise de significância entre cada período de tempo em cada espécie de planta para a desidrogenase nas incubações com EA.....	E
Quadro 5: Análise de significância entre cada período de tempo em cada espécie de planta para a desidrogenase nas amostras de solo junto das incubações com RSU	E
Quadro 6: Análise de significância entre cada período de tempo em cada espécie de planta para a desidrogenase nas amostras de solo junto das incubações com EA	E
Quadro 7: Análise de significância entre espécies em cada período de tempo para a desidrogenase nas amostras de solo junto das incubações com EA.....	F
Quadro 8: Análise de significância entre espécies em cada período de tempo para a desidrogenase nas amostras de solo junto das incubações com RSU.....	F
Quadro 9: Análise de significância entre espécies em cada período de tempo para a fosfatase nas incubações com RSU	F
Quadro 10: Análise de significância entre espécies em cada período de tempo para a fosfatase nas incubações com EA.....	F
Quadro 11: Análise de significância entre cada período de tempo em cada espécie de planta para a fosfatase nas incubações com RSU	G
Quadro 12: Análise de significância entre cada período de tempo em cada espécie de planta para a fosfatase nas incubações com EA.....	G
Quadro 13: Análise de significância entre cada período de tempo em cada espécie de planta para a fosfatase nas amostras de solo junto das incubações com RSU	H
Quadro 14: Análise de significância entre cada período de tempo em cada espécie de planta para a fosfatase nas amostras de solo junto das incubações com EA	H
Quadro 15: Análise de significância entre espécies em cada período de tempo para a fosfatase nas amostras de solo junto das incubações com EA	H
Quadro 16: Análise de significância entre espécies em cada período de tempo para a fosfatase nas amostras de solo junto das incubações com RSU	I
Quadro 17: Análise de significância entre espécies em cada período de tempo para a urease nas incubações com RSU	I

Quadro 18: Análise de significância entre espécies em cada período de tempo para a urease nas incubações com EA.....	I
Quadro 19: Análise de significância entre cada período de tempo em cada espécie de planta para a urease nas incubações com RSU	I
Quadro 20: Análise de significância entre cada período de tempo em cada espécie de planta para a urease nas incubações com EA	J
Quadro 21: Análise de significância entre cada período de tempo em cada espécie de planta para a urease nas amostras de solo junto das incubações com RSU.....	J
Quadro 22: Análise de significância entre cada período de tempo em cada espécie de planta para a urease nas amostras de solo junto das incubações com EA	J
Quadro 23: Análise de significância entre espécies em cada período de tempo para a urease nas amostras de solo junto das incubações com EA	K
Quadro 24: Análise de significância entre espécies em cada período de tempo para a urease nas amostras de solo junto das incubações com RSU	K
Anexo II: Resumo publicado no Encontro Anual da Sociedade Portuguesa da Ciência do Solo 2009.....	L
Anexo III: Capa do livro de resumos do Encontro Anual da Sociedade Portuguesa da Ciência do Solo 2009.	M
Anexo IV: Suporte gráfico utilizado na apresentação oral no Encontro Anual da Sociedade Portuguesa da Ciência do Solo 2009.....	N
Anexo V: Comprovativo da apresentação oral no Encontro Anual da Sociedade Portuguesa da Ciência do Solo 2009.	P
Anexo VI: Artigo submetido ao “International Conference ORBIT 2009 CHINA”	Q
Anexo VII: Documento de confirmação de participação no “International Conference ORBIT 2009 CHINA”	R
Anexo VIII: Programa da “International Conference ORBIT 2009 CHINA”	S

Anexo I: Resultados dos testes de Homogeneidade de variância e da ANOVA

Quadro 1: Análise de significância entre espécies em cada período de tempo para a desidrogenase nas incubações com RSU

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
RSU30	6,489	6	35	,000
RSU90	3,948	6	35	,004
RSU180	8,687	6	35	,000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + VAR00003

Quadro 2: Análise de significância entre cada espécie de planta em cada período de tempo para a desidrogenase nas incubações com EA

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
EA30	3,102	6	35	,015
EA90	3,528	6	35	,008
EA180	6,600	6	35	,000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + VAR00003

Quadro 3: Análise de significância entre cada período de tempo em cada espécie de planta para a desidrogenase nas incubações com RSU

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
BG	10,903	3	8	,003
BC	6,690	3	8	,014
W	10,209	3	8	,004
EG	13,820	3	8	,002
GC	3,922	3	8	,054
SC	15,075	3	8	,001
BS	11,730	3	8	,003

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Days

Quadro 4: Análise de significância entre cada período de tempo em cada espécie de planta para a desidrogenase nas incubações com EA

Levene's Test of Equality of Error Variances ^a				
	F	df1	df2	Sig.
BG	3,529	3	8	,068
BC	5,341	3	8	,026
W	5,912	3	8	,020
EG	2,595	3	8	,125
GC	5,221	3	8	,027
SC	6,033	3	8	,019
BS	3,215	3	8	,083

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Days

Quadro 5: Análise de significância entre cada período de tempo em cada espécie de planta para a desidrogenase nas amostras de solo junto das incubações com RSU

Levene's Test of Equality of Error Variances ^a				
	F	df1	df2	Sig.
Eucalipto	3,266	2	6	,110
Choupo	5,127	2	6	,050
Salgueiro	7,409	2	6	,024
Capim	5,433	2	6	,045
CanaReino	6,388	2	6	,033
CanaAçucar	3,621	2	6	,093
Controlo	3,438	2	6	,101

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Dias

Quadro 6: Análise de significância entre cada período de tempo em cada espécie de planta para a desidrogenase nas amostras de solo junto das incubações com EA

Levene's Test of Equality of Error Variances ^a				
	F	df1	df2	Sig.
Eucalipto	10,986	2	6	,010
Choupo	5,113	2	6	,051
Salgueiro	2,855	2	6	,135
Capim	7,370	2	6	,024
CanaReino	11,669	2	6	,009
CanaAçucar	7,906	2	6	,021
Controlo	2,914	2	6	,131

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Dias

Quadro 7: Análise de significância entre espécies em cada período de tempo para a desidrogenase nas amostras de solo junto das incubações com EA

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
EA90	12,938	6	35	,000
EA180	11,411	6	35	,000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + VAR00003

Quadro 8: Análise de significância entre espécies em cada período de tempo para a desidrogenase nas amostras de solo junto das incubações com RSU

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
RSU90	3,369	6	35	,010
RSU180	2,543	6	35	,038

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + VAR00003

Quadro 9: Análise de significância entre espécies em cada período de tempo para a fosfatase nas incubações com RSU

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
RSU30	4,137	6	56	,002
RSU90	4,027	6	56	,002
RSU180	2,411	6	56	,038

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + VAR00003

Quadro 10: Análise de significância entre espécies em cada período de tempo para a fosfatase nas incubações com EA

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
EA30	7,740	6	56	,000
EA90	4,204	6	56	,001
EA180	10,357	6	56	,000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + VAR00003

Quadro 11: Análise de significância entre cada período de tempo em cada espécie de planta para a fosfatase nas incubações com RSU

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
BG	10,903	3	8	,003
BC	6,690	3	8	,014
W	10,209	3	8	,004
EG	13,820	3	8	,002
GC	3,922	3	8	,054
SC	15,075	3	8	,001
BS	11,730	3	8	,003

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Days

Quadro 12: Análise de significância entre cada período de tempo em cada espécie de planta para a fosfatase nas incubações com EA

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
BG	4,383	3	8	,042
BC	3,894	3	8	,055
W	3,506	3	8	,069
EG	10,269	3	8	,004
GC	2,879	3	8	,103
SC	6,342	3	8	,016
BS	2,948	3	8	,098

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Days

Quadro 13: Análise de significância entre cada período de tempo em cada espécie de planta para a fosfatase nas amostras de solo junto das incubações com RSU

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
Eucalipto	8,034	2	6	,020
Choupo	4,047	2	6	,077
Salgueiro	8,336	2	6	,019
Capim	9,176	2	6	,015
CanaReino	3,937	2	6	,081
CanaAçucar	4,982	2	6	,053
Controlo	13,209	2	6	,006

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Dias

Quadro 14: Análise de significância entre cada período de tempo em cada espécie de planta para a fosfatase nas amostras de solo junto das incubações com EA

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
Eucalipto	4,384	2	6	,067
Choupo	13,518	2	6	,006
Salgueiro	3,754	2	6	,088
Capim	5,192	2	6	,049
CanaReino	3,719	2	6	,089
CanaAçucar	7,557	2	6	,023
Controlo	11,342	2	6	,009

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Dias

Quadro 15: Análise de significância entre espécies em cada período de tempo para a fosfatase nas amostras de solo junto das incubações com EA

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
EA90	5,983	6	56	,000
EA180	8,516	6	56	,000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + VAR00003

Quadro 16: Análise de significância entre espécies em cada período de tempo para a fosfatase nas amostras de solo junto das incubações com RSU

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
RSU90	4,307	6	56	,001
RSU180	6,168	6	56	,000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + VAR00003

Quadro 17: Análise de significância entre espécies em cada período de tempo para a urease nas incubações com RSU

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
RSU30	9,778	6	56	,000
RSU90	,421	6	56	,862
RSU180	2,817	6	56	,018

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + VAR00003

Quadro 18: Análise de significância entre espécies em cada período de tempo para a urease nas incubações com EA

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
EA30	5,940	6	56	,000
EA90	1,136	6	56	,354
EA180	5,345	6	56	,000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + VAR00003

Quadro 19: Análise de significância entre cada período de tempo em cada espécie de planta para a urease nas incubações com RSU

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
BG	4,570	3	8	,038
BC	3,912	3	8	,055
W	10,097	3	8	,004
EG	11,312	3	8	,003
GC	3,559	3	8	,067
SC	3,134	3	8	,087
BS	8,747	3	8	,007

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Days

Quadro 20: Análise de significância entre cada período de tempo em cada espécie de planta para a urease nas incubações com EA

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
BG	4,828	3	8	,033
BC	8,411	3	8	,007
W	7,871	3	8	,009
EG	5,224	3	8	,027
GC	5,654	3	8	,022
SC	5,997	3	8	,019
BS	4,268	3	8	,045

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Days

Quadro 21: Análise de significância entre cada período de tempo em cada espécie de planta para a urease nas amostras de solo junto das incubações com RSU

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
BG	4,921	2	6	,054
BC	2,135	2	6	,199
W	4,008	2	6	,078
EG	5,585	2	6	,043
GC	7,239	2	6	,025
SC	8,234	2	6	,019
BS	5,653	2	6	,042

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Days

Quadro 22: Análise de significância entre cada período de tempo em cada espécie de planta para a urease nas amostras de solo junto das incubações com EA

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
BG	3,173	2	6	,115
BC	3,507	2	6	,098
W	4,245	2	6	,071
EG	3,261	2	6	,110
GC	8,608	2	6	,017
SC	5,556	2	6	,043
BS	9,054	2	6	,015

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Days

Quadro 23: Análise de significância entre espécies em cada período de tempo para a urease nas amostras de solo junto das incubações com EA

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
EA90	3,034	6	56	,012
EA180	1,022	6	56	,421

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + VAR00003

Quadro 24: Análise de significância entre espécies em cada período de tempo para a urease nas amostras de solo junto das incubações com RSU

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
RSU90	3,034	6	56	,012
RSU180	1,022	6	56	,421

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + VAR00003

Anexo II: Resumo publicado no Encontro Anual da Sociedade Portuguesa da Ciência do Solo 2009.

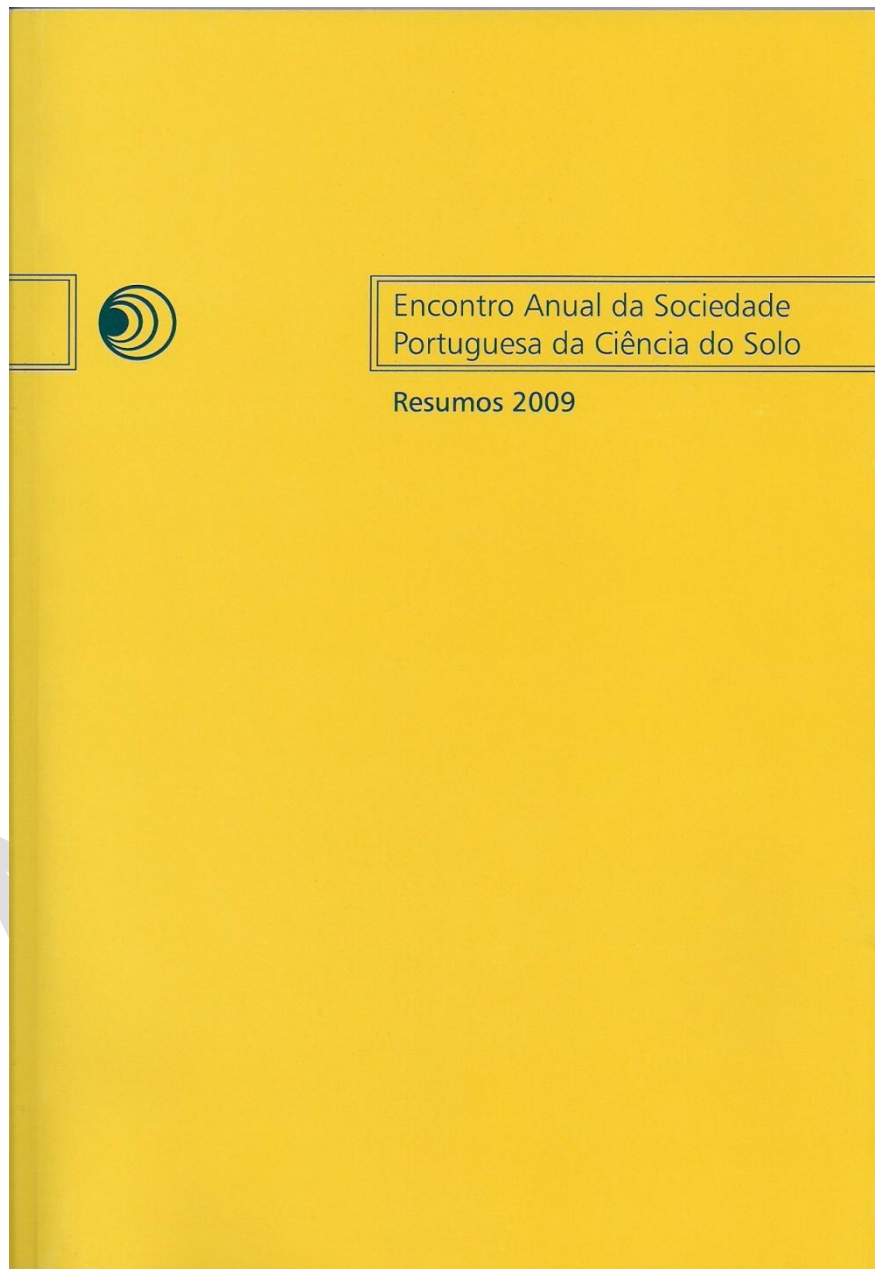
Efeito dos exsudados radiculares na decomposição de resíduos orgânicos aplicados ao solo: incubação “*in situ*”

Alves, T.F., Cordovil C.M.d.S., Basanta R.

UIQA, Instituto Superior de Agronomia, TULisbon, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa Portugal, email: rosariobasan@isa.utl.pt

A actividade dos microorganismos é essencial para a manutenção da fertilidade dos solos, mas o crescimento da microbiota edáfica depende da quantidade de carbono facilmente disponível pelo que é benéfica a adição de matéria orgânica quando o objectivo é incrementar a produção. Os exsudados radiculares das plantas melhoram o ambiente da rizosfera acelerando a reciclagem de nutrientes através da estimulação da actividade microbiana que actua sobre os resíduos orgânicos, assim mais rapidamente decompostos. A actividade e composição microbiana da rizosfera é diferente segundo a espécie das plantas, já que os exsudados das raízes também diferem entre elas. O objectivo deste estudo foi determinar o nível de decomposição de diferentes resíduos orgânicos aplicados ao solo sob a influência dos exsudados radiculares na mineralização do mesmo, analisando a possibilidade da existência de padrões diferenciados de comportamento entre espécies lenhosas e herbáceas. Para isto efectuou-se um ensaio de incubação *in situ* (método “litterbag”) com enterramento de 2 resíduos diferentes: RSU (resíduo sólido urbano) e EA (estrume de aviário) em blocos casualizados, no solo sem coberto vegetal, e na proximidade das raízes de plantas lenhosas (3 espécies: Eucalipto, Salgueiro e Choupo) e herbáceas (3 espécies em C4, capim elefante, cana de açúcar e cana do reino). A avaliação dos parâmetros bioquímicos na amostragem, realizada aos 30 dias do enterramento, indicou uma actividade metabólica significativamente maior para o EA na rizosfera das plantas lenhosas comparativamente com as herbáceas. O Eucalipto foi a espécie que apresentou valores mais altos desta actividade. Em qualquer dos casos a análise das amostragens aos 90 e 180 dias irão confirmar se estes resultados podem indicar padrões de comportamento entre espécies.

Anexo III: Capa do livro de resumos do Encontro Anual da Sociedade Portuguesa da Ciência do Solo 2009.



Anexo IV: Suporte gráfico utilizado na apresentação oral no Encontro Anual da Sociedade Portuguesa da Ciência do Solo 2009.

EFEITO DOS EXSUDADOS RADICULARES NA DECOMPOSIÇÃO DE RESÍDUOS ORGÂNICOS APLICADOS AO SOLO: INCUBAÇÃO "IN SITU"



Alves, T.F., Cordovil, C.M.d.S., Basanta, R.

UIQA, Instituto Superior de Agronomia, TULisbon, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa Portugal, email: tiagofalves@msn.com



INTRODUÇÃO

- A actividade dos microrganismos é essencial para a manutenção da fertilidade dos solos.
- O crescimento da microbiota edáfica depende da quantidade de carbono facilmente disponível.
- A adição de matéria orgânica é benéfica quando o objectivo é incrementar a produção.
- Há uma estimulação da actividade microbiana pelos exsudados radiculares das plantas que melhoram o ambiente da rizosfera acelerando a reciclagem de nutrientes.
- A actividade e composição microbiana da rizosfera é diferente segundo a espécie das plantas, já que os exsudados das raízes também diferem entre elas.

OBJECTIVOS

- Determinar o nível de decomposição de diferentes resíduos orgânicos aplicados ao solo sob a influência dos exsudados radiculares na mineralização dos mesmos.
- Analisar a possibilidade da existência de padrões diferenciados de comportamento entre espécies lenhosas e herbáceas.

METODOLOGIA

Ensaio de incubação *in situ* (método "litterbag")

Solo: Vertissolo, textura argilosa

Enterramento de 2 resíduos diferentes:

- Composto RSU (resíduo sólido urbano)
- EA (estrume de aviário)



Localizações

Parcelas em blocos casualizados

- Solo sem coberto vegetal

- Na proximidade das raízes de plantas lenhosas: Eucalipto (*Eucalyptus globulus* L.), Salgueiro (*Salix ssp. salviifolia*) e Choupo (*Populus trichocarpa*)

- Na proximidade das raízes de plantas herbáceas: C4, Capim Elefante (*Pennisetum purpureum*), Cana do Reino (*Arundo donax*) e Cana de Açúcar (*Saccharum officinarum* L.)



Peso (%)

	EA	RSU
Gorduras, óleos, ceras, etc	2.3 %	3 %
Açúcares Simples, Polifenóis	20 %	4.3 %
Celulose Primária	60.6 %	46.3 %
Lenhina	11.3 %	46.5 %
C/N	28	47
Lenhina/N	3.20	22.17

Determinações do nível de decomposição

Bioindicador: análise de actividade da população microbiana.

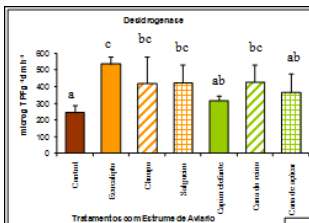
▪ **ACTIVIDADE DESIDROGENASE** (Tabatabai, 1997). Indicador do sistema redox microbiano para testar a actividade metabólica geral do solo (boa correlação com a respiração do solo).

▪ **ACTIVIDADE FOSFATASE** (Tabatabai e Bremner, 1969). Catalisa a hidrólise dos ésteres e dos anidridos do ácido fosfónico.

▪ **ACTIVIDADE UREASE** (Candeler e Gerber, 1988). Relacionada com o ciclo do azoto, catalisa a hidrólise da ureia a dióxido de carbono e amoníaco.

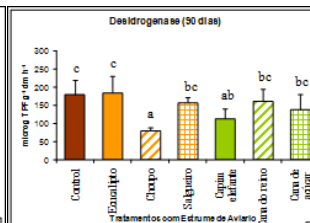


RESULTADOS AOS 30
E 90 DIAS DE
ENTERRAMENTO



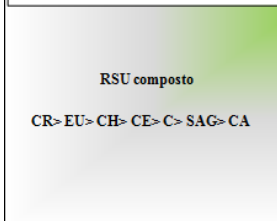
ACTIVIDADE METABÓLICA AOS 30 DIAS

Estrume de aviário (EA)
EU > CR > SAG > CH > CA > CE > C
535.8 µg TPF g⁻¹ dm h⁻¹ em EU

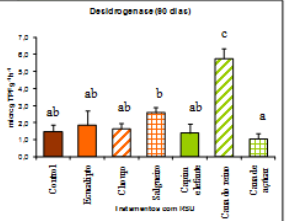
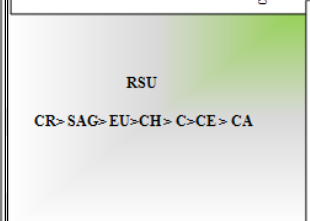
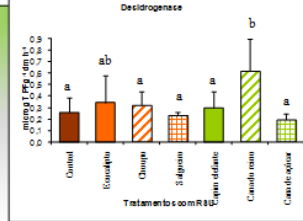


ACTIVIDADE METABÓLICA AOS 90 DIAS

ESTRUME DE AVIÁRIO (EA)
EU > C > CR > SAG > CA > CE > CH



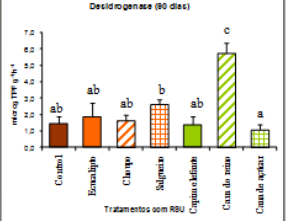
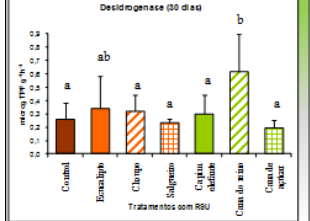
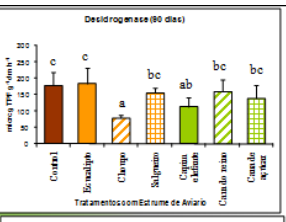
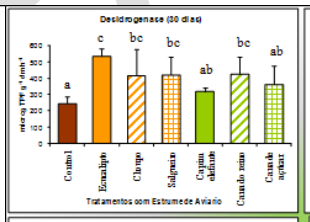
RSU composto
CR > EU > CH > CE > C > SAG > CA



ACTIVIDADE DESIDROGENASE (Tabatabai, 1997)

90 dias de enterramento

As análises aos 90 dias de enterramento confirmam esta hipótese: enquanto que no EA a actividade da ADH sofre uma redução entre 1 e 5 vezes em todas as espécies, sendo a lenhosa Eucalipto a que apresenta maior actividade, no composto de RSU vê-se incrementada entre 5 e 11 vezes, sendo a herbácea Cana do Reino de novo a espécie com a maior actividade, seguida pela lenhosa Salgueiro.



CONCLUSÕES

▪ A actividade metabólica foi maior para o EA que para o RSU.

▪ Aos 90 dias de enterramento houve uma diminuição da actividade metabólica no EA e um incremento no RSU, pelo que pode dizer-se que, neste caso, o RSU composto apresenta uma matéria orgânica mais estabilizada que foi mais resistente à mineralização microbiana.

▪ No caso de o EA, a espécie lenhosa Eucalipto foi a que apresentou valores mais altos de actividade metabólica, e no caso do RSU foi a espécie herbácea Cana do Reino, seguida pelas lenhosas Eucalipto e Salgueiro.

FUTURAS ANÁLISES

As análises aos 180 dias irão confirmar se estes resultados podem indicar padrões de comportamento entre espécies lenhosas e herbáceas, complementados pela análise das actividades fosfatase e urease (incluindo o solo em contacto com os "litter bags").

Além disso, irá fazer-se o fraccionamento da matéria orgânica e o estudo dos ácidos gordos dos fosfolípidos (PLFAs) para determinar a estrutura da comunidade microbiana no solo em contacto com os "litter bags".

Anexo V: Comprovativo da apresentação oral no Encontro Anual da Sociedade Portuguesa da Ciência do Solo 2009.



Anexo VI: Artigo submetido ao “International Conference ORBIT 2009 CHINA”.

Anexos

MUNICIPAL SOLID WASTE: INFLUENCE OF ROOT EXUDATES ON COMPOST DECOMPOSITION AND MICROBIAL ACTIVITY IN SOIL

T.F.Alves, C.M.d.S. Cordovil, R. Basanta, R.C. Fernandes, R.M. Pinto

Instituto Superior de Agronomia, TULisbon, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisbon

Contact: Prof. Cláudia M.d.S. Cordovil, Instituto Superior de Agronomia, TULisbon, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisbon, Portugal, email: cms@isa.utl.pt

EXECUTIVE SUMMARY

The mineralization of organic compounds in soils, like organic residues, is dependent on a number of factors. Besides the climatic factors and soil physical properties, other factors such as the biologic properties of soils, influence organic matter mineralization in soils, regardless of its endogenous or exogenous nature. In fact, mineralization of organic materials in soils is a microbial regulated process. Therefore, the role of soil microorganisms is essential to maintain soil fertility with direct impact on its productivity. Amongst others, one of the factors known as influencing microbial action are the root exudates in rhizosphere, as they play an important role in these processes, since they have the skill to stimulate the microbial activity and thus speed up nutrient recycling from organic matter in soils and from organic residues applied. The root exudates composition varies quantitatively and qualitatively according to plant specie and acts selectively over different biologic communities, according to the specific needs of each one. Based on this knowledge, the objective of this work consisted in determining the influence of root exudates on the mineralization of an organic residue, a composted Municipal Solid Waste (MSW), applied to the soil. An *in situ* incubation experiment was installed in an experimental field where the residue was put to mineralize under the influence of root exudates of three herbaceous species: Elephant Grass (*Pennisetum purpureum* L.), Giant Cane (*Arundo donax* L.) and Sugar Cane (*Saccharum officinarum* L.) and three woody species: Blue Gum (*Eucalyptus globulus* L), Black Cottonwood (*Populus trichocarpa* Torr. & Gray) and Willow (*Salix salviifolia* ssp) as well as in bare soil without plant cover. Towards such an objective, the litter bag *in situ* incubation experiment was set up in randomized blocks and the mineralization of the residue referred above was determined. To evaluate the mineralization evolution of the residue, dehydrogenase enzyme activity was monitorized along the experiment, by sampling at 0, 30, 90 and 180 days after setting date.

An increase in dehydrogenase activity was observed during the experiment in all plots, and at 30 and 90 days the Giant Cane enzyme activity stood out over the other plant species, due both to favorable environmental conditions and its great adaptability to soil and climatic conditions. Amongst the other species, no significant differences in dehydrogenase activity were observed. After 180 days, no significant differences between all plants plots were observed either. However, it is perceptible a slight increase of dehydrogenase activity in woody plants, compared to herbaceous.

1 INTRODUCTION

Understanding the mechanisms that involve the mineralization process of organic residues in soils is essential for predicting its potential beneficial effects. In these processes the microorganisms in the soil play an essential role and all factors influence on them are liable to change soil productivity. Amongst these factors, we can refer the root exudates, which are mainly low molecular weight compounds released into the soil by root cells present in apical zone, by passive diffusion (Charley, et al., 1983). The labile nature of these compounds allows them to be quickly used by soil organisms, promoting their population growth and therefore, accelerating organic matter decomposition. Amongst these compounds we can find amino acids, carbohydrates or organic acids. The proportion of each compound and the amount released depends on plant specie, according to the specific needs of each one. Increased root exudation is usually associated with a condition of nutritional stress and the composition of root exudates will promote certain microbial communities over others (Walker, et al., 2003). Rhizosphere microbial activity is thus expected to be higher in plant species that have a high concentration in root solute, a rapid growth and a small amount of root structural C, which may limit the passive diffusion of exudates through the root tissue. For example, Valé et al. (2005) reported that amongst six herbaceous species (*B. media*, *R. acetosella*, *E. hirsutum*, *E. cannabinum*, *U. dioica* and *R. obtusifolius*) with no significant difference in root biomass between species, *E. hirsutum* and *E. cannabinum* showed higher soluble C (7,9% and 7,8% dry matter respectively) and higher microbial activity (~ 60% and ~50% ^{14}C added in rizhosphere), comparing to *R. acetosella* with low soluble C (3,5% dry matter) and low rhizosphere microbial activity (~35% ^{14}C added).

1.1 Research objectives

The objective of this study was to settle patterns of mineralization for an organic residue applied to the soil, under the influence of root exudates from six bio-energetic plant species in a Vertisol under Mediterranean climate. For this purpose bio-energy herbaceous and woody species were used considering the hypothesis off different performance between the two groups of plants.

2 METHODOLOGY

2.1 Experimental site and soil

A field experiment was conducted from January 29, 2009 to August 1, 2009 in the “Bioenergisa” Experimental Field at the Instituto Superior de Agronomia (ISA) Technical University of Lisbon (Portugal) (38°42'31.58"N, 9°10'56.36"W), with the objective of evaluating the effect of root exudates in the mineralization of a composted municipal solid waste. The *in situ* incubation experiment was set with randomized design in the above referred field, in a Vertisol (FAO) which main chemical characteristics are show in Table 1.

Table 1: Soil chemical characteristics

pH (H ₂ O)	7.26	Mg ²⁺ (mg kg ⁻¹)	93.96
K ₂ O (mg kg ⁻¹)	170	K ⁺ (mg kg ⁻¹)	7.79
P ₂ O ₅ (mg kg ⁻¹)	440	Na ⁺ (mg kg ⁻¹)	4.40
N-mineral (mg kg ⁻¹)	14.70	Fe ²⁺ (mg kg ⁻¹)	106.95
N-NO ₃ (mg kg ⁻¹)	3.42	Cu (mg kg ⁻¹)	8.40
N-NH ₄ (mg kg ⁻¹)	11.28	Zn (mg kg ⁻¹)	6.15

2.2 Organic residue tested

The organic residue used was a composted municipal solid waste (MSW) from Valorsul which chemical characterization can be seen in Table 2. Approximately 60 g of the MSW residue were placed inside 13.5 x 19 cm² nylon mesh bags (litter-bags).

Table 2: Residue characteristics

pH	7.51
N_{total} (g/100g) (Kjeldahl)	2.11
P₂O₅ (mg/kg) (Riehm)	51.16
K₂O (mg/kg) (Riehm)	63.32
Organic Matter (%)	98
Fat, oils, waxes, etc. (% weight)	3
Simple sugars and water-soluble polyphenols (% weight)	4.3
Primarily cellulose (% weight)	46.3
Lignin (% weight)	46.5
C/N	47
Lignin/N	22.17

2.3 Plot configuration and “in situ” incubation

The litter bags were buried at approximately 10 cm depth, according with randomized block design with three replicates on 5x6 m² (woody species) and 2x5 m² (herbaceous species) experimental plots. The *in situ* incubation was set up according to the procedures described by OCDE (2006).

The plots of three woody species Blue Gum (*Eucalyptus globulus* L), Black Cottonwood (*Populus trichocarpa*) and Willow (*Salix salviifolia* ssp) and three C4 herbaceous species Elephant Grass (*Pennisetum purpureum*), Giant Cane (*Arundo donae*) and Sugar Cane (*Saccharum officinarum* L.) were selected as the ones to set the experiment, in order to evaluate the effects of the different root exudates in the residues mineralization. Litter-bags containing the MSW were buried near the plants roots and in a control plot installed in the same soil without plants. Bags were enough to allow a sampling at 0, 30, 90 and 180 days after setting the experiment.

2.4 Soil and waste analysis

Soil characterization was performed in each one of the plots where the experiment was set. Soil samples were taken to determine pH (H₂O), P₂O₅ and K₂O by Engner-Riehm extraction, total N by Kjeldahl method (ISO/DIS 5663, 1982; Santos, 1987), N-NO₃ and N-NH₄ by Molecular Absorption Spectrophotometry after KCl 2M extraction, cation Exchange by Ammonium acetate 1N and Fe, Cu, Zn and Mn by Lakanen & Ervio methodology.

Waste characterization was performed and the following parameters were determined: pH (H₂O), P₂O₅ and K₂O by Engner-Riehm extraction, total N by Kjeldahl method (ISO/DIS 5663, 1982; Santos, 1987), organic matter by calcination in a muffle furnace at 450 °C and Proximate Carbon Fractions.

2.5 Sample preparation and analysis

After collecting in the field at each sampling time, litter-bags were taken to the laboratory, air dried (three days at 25°C) and the outside cleaned with a soft brush. After this, samples are removed from the bags and ground in an electric mill. These samples were submitted to enzymatic analysis (dehydrogenase activity), as indicator of metabolic activity. In order to allow the use of this method for residues analysis, it was necessary to adjust the sample weight at 2g.

2.6 Statistical Analysis

A normality test was done in all parameters prior to analyzing the variance. Statistical analysis was performed by one-way and two way ANOVA and significant differences were based on a Tukey's test at 95% confidence (Zar 1996).

3 RESULTS AND DISCUSSION

The general analysis of results showed an increase in the dehydrogenase activity during the experiment. This increase led to the observation of enzymatic activity 4 to 10 times higher in the period of 30 to 90 days and 5 to 16 times higher in the period of 90 to 180 days, corresponding to an overall increase of 20 to 40 times during all the experiment.

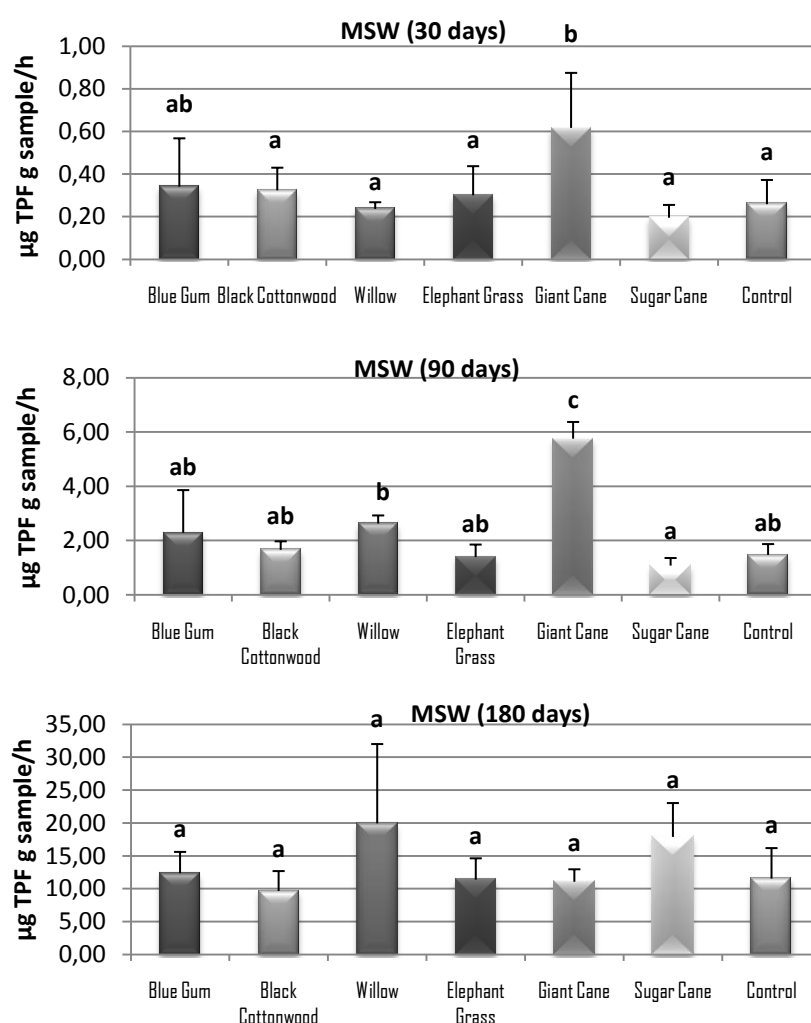


Figure 1: Dehydrogenase activity from MSW in different plots at 30, 90 and 180 days.

This behavior was according to expected, given the characteristics of the residue used, mainly the high C/N ratio and the lignin content (Tab 2). It is worth stressing out the fact that this is a composted residue and therefore more stable. For these reasons, the residue usually shows a slow decomposition, with a low microbial activity and therefore a small dehydrogenase activity, especially in the early stages of decomposition. Over time the more complex compounds are decomposed into more simple ones and this leads to a C/N ratio decrease which causes the microbial activity to increase (Varennnes, 2003), namely as dehydrogenase activity.

When the sampling was made at 30 days after the setting date of the incubation, no significant differences ($p < 0.05$) between the plant species were found, except for the Giant Cane. This plant is considered to be invasive species in the Mediterranean regions with high growth rates, especially in damp places (Weber, 2003) like the experimental site which presents a moderately rainy winter. In fact the plants from this species had a higher dehydrogenase activity at the times corresponding to 30 days and 90 days samples. The high growth performance of the species probably led to a greater activity in these plants rhizosphere, with greater root exudation and microbial activity. On the other hand, the Sugar Cane, which is a less adapted species to the cold winter conditions, showed low and constant dehydrogenase activity but, in most of the cases, however, with no significant differences ($p < 0.05$) to other plants species (Figure 1).

The analysis of the dehydrogenase activity in samples taken after 90 days, showed a similar trend as that observed in the samples taken after 30 days. The identical weather conditions observed, certainly had a strong influence in these results. In the samples taken from the Willow plot, a slight increase in metabolic activity relative to others plant species was observed, although no statistically significant differences were determined.

In the samples collected after 180 days an identical behavior between all plant species, was observed, and no significant differences ($p < 0.05$) were present. The period between 90 and 180 days after setting date, corresponded to the beginning of the dry season. At this date, the Giant Cane, with had a greater microbial activity after 30 days and 90 days, was one of the species who presented a lower dehydrogenase activity. On the other hand, Sugar Cane was the second species which presented a higher activity, opposite to what had occurred in 30 days and 90 days sampling times (Figure 1).

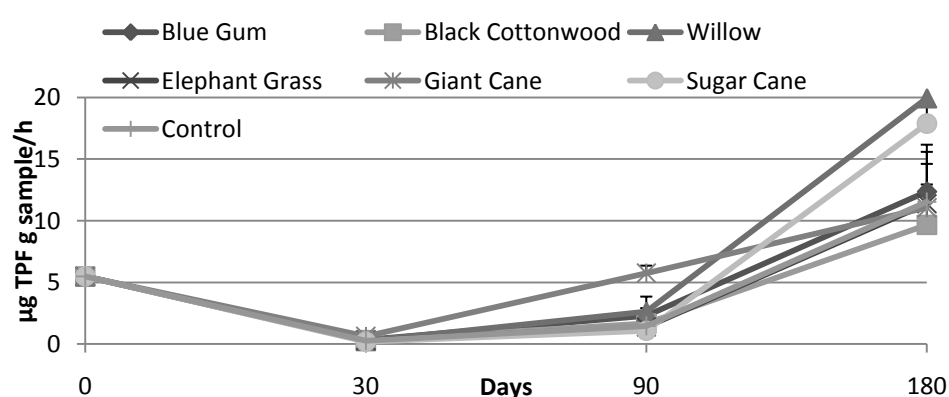


Figure 2: Development of dehydrogenase activity for the different plots throughout the duration of the test

Globally, this experiment showed an evolution of the dehydrogenase activity as stated above, but only when samples were taken at 180 days after setting time. At this sampling date, dehydrogenase activity exceeded that observed in the initial samples, which may be due to the soil conditions between the beginning of the experiment and the period between 90 and 180 days. As mentioned before, the first two samplings performed during the experiment, matched with

the wet season, with a soil moisture that averaged 70% of field water capacity (Instituto de Meteorologia, 2009). Because the soil in the field plots was a Vertisol, susceptible to flooding, anaerobic conditions were created and this can be a restrictive factor to microbial activity. Under these circumstances the soil environment may have limited root exudates effects.

The difference between herbaceous and woody plants, as plants groups, was not very clear and requires further study. However, by the observation of Figure 2 one can see that dehydrogenase activity was slightly higher in woody plants like willow, but not always statistically significant. These two groups of plants have different root architecture, the herbaceous plants have much more root density in topsoil than woody plants, but the relation between root architecture and root exudation is very little known (Walker, et al., 2003).

4 CONCLUSIONS

Microbial activity in the rhizosphere of different plant species under the action of root exudates was not very clear. The woody plant species showed a slightly higher dehydrogenase activity than herbaceous plants. However, when the climate conditions were favorable, in the Giant Cane plots, significant differences in microbial activity were observed, compared to all other species. Root exudates effects could have been minimized by other factors like soil environment. Microbial activity near herbaceous plants roots appeared to be more susceptible to seasonality effects than the woody plants. However this behavior was not clear and need confirmation. More studies need to be made, mainly in the link between root architecture and exudates effects.

5 ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank: Mrs Paula Silva for technical assistance, “Campo experimental Bioenergisa” for the use of the field and FCT and Fundação Oriente for funding.

REFERENCES

- Charley, J. and Richards, B. (1983): Ecosystem Processes: Mineral Cycling, Productivity and Man's Influence. O. Lange, et al. eds. *Physiological Plant Ecology IV*. Berlin : Springer - Verlag, 1983.
- Instituto de Meteorologia. (2009): Boletins Climatológicos. *Instituto de Meteorologia*. [Online] Fevereiro, Março, Abril, Maio, Junho, Julho (2009): [Cited: September 30, 2009.] <http://www.meteo.pt>.
- OCDE. (2006). *Guidance Document on the Breakdown of Organic Matter in Litter Bags*. Paris : OCDE, 2006. Vol. 56, Series on Testing and Assessment.
- Quilchano, C. and Marañón, T. (2002): Dehydrogenase activity in Mediterranean forest soils. *Biol Fertil Soils*. Vol. 32, pp. 102 - 107.
- Travis, W.S., Bais, H.P., Grotewold, E. and Vivanco, J.M. (2003): Root exudation an rhizosphere biology. *Plant Physiology*. 2003, Vol. 132, Update on root exudation and rhizosphere biology, pp. 44 - 51
- Valé, M., Nguyen, C., Dambrine, E., Dupouey, J.L. (2005): Microbial activity in the rhizosphere soil of six herbaceous species cultivated in a greenhouse is correlated with shoot biomass and root C concentrations. *Soil biology & biochemistry*, Vol. 37, pp. 2329 - 2333
- Varennnes, A. de (2003) *Propriedade dos Solos e Ambiente*. Lisboa : Escolar Editora, pp. 157 – 163
- Weber, E. (2003): *Invasive Plant Species of the World*. Zurich : CAB International, p. 57
- Zar JH (1996): *Biostatistical analysis*. 3rd ed. Prentice Hall Inc. 662 p.

Anexo VII: Documento de confirmação de participação no “International Conference ORBIT 2009 CHINA”.

Anexos

To all speakers at the
Conference ORBIT2009

Weimar, 2009-11-09

Confirmation of Participation ORBIT2009 - 19.-21. Nov. 2009

Dear Author,

in order to complete the Conference Programme, we need a binding confirmation of your participation at the ORBIT2009 in China.

Please send this form to the following fax number: **+49 2522 960 343.**

☐ Herewith I confirm my participation as a speaker at the
Conference ORBIT2009 in China

This is how you presentation will appear in the programme. Please check it carefully:

Please underline the presenting author!

The layout of my presentation/s in the Conference Programme
is ☐ okay ☐ okay after revision

Signature

Date

With kind regards



Josef Barth
Managing Director ORBIT e.V.

Tel.
+49(0)3643/58-4614

Fax.
+49(0)3643/58-4643

E-mail.
info@orbit2009.de

Postal Address
ORBIT e.V.
Postfach 2229
D-99403 Weimar
GERMANY
VAT-ID-No. DE 813811932
Tax-Nr. FA Erfurt 161/142/02383
VRB 827 Weimar

Anexo VIII: Programa da “International Conference ORBIT 2009 CHINA”.

ORBIT2009 CHINA Programme Page 1 -

Programme of the International Conference ORBIT 2009 CHINA (5 parallel sessions) Status 20/10/2009

The programme is subject to change, please visit the website www.orbit2009.de; www.orbit2009.com.cn for the latest updates

Day 1 - Morning 19 th of November 2009				
Opening Session and Key note speeches				
Chair Prof. Dr. Fusuo Zhang, Prof. Dr. Ing.-habil. Werner Bidlingmaier				
Lunch break				
Day 1 - Afternoon 19 th of November 2009				
Room 1	Room 2	Room 3	Room 4	Room 5
Composting process Chair Prof. Ushikubo Akikuni	Anaerobic digestion - biogas Chair Prof. Dr. Joan Mata-Alvarez	Green house gas emission Chair Carsten Cuhls	Biomass use for energy and fuels Chair Prof. Marco de Bertoldi	Compost application Chair Josef Barth
Coffee/tea break				
Composting process Chair Prof. Li Ji	Anaerobic digestion - biogas Chair Prof. Renjie Dong	Climate change/LCA Chair Prof. Klaus Fricke	Biomass assessment Chair Prof. Wang Hongtao (tbc)	Composting technology Chair Wu Desheng
Banquet / Evening meeting				
Day 2 - Morning 20 th of November 2009				
Room 1	Room 2	Room 3	Room 4	Room 5
Composting technology Chair Prof. Dr. Jonathan Wong	Anaerobic digestion - process Chair Prof. Dr. Bernhard Raninger	Composting specific waste streams Chair Chen Tongbin	Biomass use for energy and fuels Chair Prof. Peng Zhang	Municipal waste management Chair Prof. Li Rundong
Coffee/tea break				
Compost quality Chair Shen Qirong	Anaerobic digestion - co-digestion Chair Prof. Wang Kaijun	Wastewater treatment Chair Prof. Zhou Qixing	Bioorganic waste management Chair Dr. Luis Diaz	Municipal waste management Chair Dir. Haiyun Xu
Lunch break				
Day 2 - Afternoon 20 th of November 2009				
Room 1	Room 2	Room 3	Room 4	
Compost quality Chair Prof. Xi Beidou	Anaerobic digestion - process Chair Dr. Dunja Hoffmann	Treatment specific waste streams Chair He Pinjing	Composting technology Chair Wang Qunhui	-
Coffee/tea break				
Closing session				
Day 3 - Morning 21 st of November 2009				
Study tour (Excursions)				

Day 2 - Afternoon 20 th of November 2009					
	Room 1	Room 2	Room 3	Room 4	Room 5
	Compost quality Chair Prof. Xi Beidou	Anaerobic digestion - process Chair Dr. Dunja Hoffmann	Treatment specific waste streams Chair He Pinjing	Composting technology Chair Wang Qunhui	Municipal waste management Chair Josef Barth
13.40	Research process on reducing the loss of nitrogen in the entire process of composting (18) Xi Beidou, Chinese Research Academy of Environmental Science, China	Process monitoring based performance optimisation of biogas plants in Germany (-) F. Scholwin, German Biomass Research Centre Leipzig, Germany	Co-composting of agricultural residues and food wastes (-) Li Guoxue, China	Performance of a pilot scale biotrickling filter for ammonia removal from composting using different aeration modes (88) C.F. Wu, University of Science and Technology Beijing, China	Municipal solid waste compost application - influence of root exudates on compost decomposition and microbial activity (459) T.F. Alves, C.M.d.S. Cordovil, R. Basanta, Instituto Superior de Agronomia, Lisbon, Portugal
14.00 h	Removal of heavy Metals in municipal solid waste compost by flushing (14) Zhao Shu-Lan, College of Chemistry and Life Sciences, Tianjin Normal University, China	Effect of water flushing on the acidification process in anaerobic digestion of swine manure (36) Guo Jianbin, China Agricultural University, China	Changes of enzymes and microorganisms of agricultural Waste Materials during composting in high temperature and static state (10) Gu Jie, College of Life Sciences, Northwest University, China	The discussion for technology and equipment of organic and inorganic compound fertilizer by animal manure (80) Ma Xuelling, Chinese Academy of Agricultural Mechanization Sciences, China	Utilization of fruit waste as co-substrate for pig manure anaerobic co-digestion - The COD:N:P balance (521) L.M. Ferreira, E. A. Duarte, D.Figueiredo,
14.20 h	VFA as potential risk of compost plant toxicity (486) M. Himanen, K. Hänninen, Department of Biological and Environmental Sciences, Jyväskylä University, Finland	Effect of food to microorganism ratio on biohydrogen production from food waste via anaerobic fermentation (38) Pan Jinming, Zhejiang University, China	Effect of microbial inoculums on the second fermentation of composting process (15) Zhang Ming-yu, School of Chemistry and Chemical Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou, China	The application of fluorescence spectroscopy for the evaluation of the compost maturity (79) He XiaoSong, Chinese Research Academy of Environmental Science, China	Gliding arc assisted reforming of methane into hydrogen (497) L.Zhong, J.H.Yan, X.D.Li, S.Y.Lu, Y.Ch, K.F.Ce
14.40 h	A model coupling organic matter and organic micro-pollutants dynamics during composting (470) G. Lashermes ¹ , Y. Zhang ¹ , J.P. Steyer ² , S. Houot ¹ , Enrique Barriuso ¹ , D. Patureau ¹ , and P. Garnier ¹ ¹ INRA-AgroParisTech, Environment and Arable Crops Research Unit, Thiverval-Grignon, France ² INRA, Laboratory of Environmental Biotechnology, Narbonne, France	<i>Presentation of the GTZ Training for Biogas Design Institutes.</i>	L-lactic acid production from distiller's grain by lactobacillus casei under open fermentation (67) Liu Yingying, Civil and Environmental Engineering School, University of Science and Technology Beijing, China	Optimizing the composting of tobacco fine waste by swine manure addition (83) Li Tang, Yunnan Agricultural University, China	
15.00 h	Optimization of bacteriological quality of bio solids by lime addition (428) M. Farzadkia, School of Public Health, Iran University of Medical Sciences, Iran	Bacterial diversity of microbial community with capability of degrading lignocellulose (91) Wang Weidong, Heilongjiang August First Land Reclamation University, China	Manure management and dairy industry: issues, challenges and solutions (416) S. Ahmad ¹ , M. K. Khan ² ¹ Department of Livestock Management, ² Department of Veterinary Parasitology, Both: University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan	Promotion of surfactants APG additions during agricultural wastes aerobic composting (56) Zhang Fabao, GAAS / Guangdong Key Laboratory of Nutrient Cycling and Farmland Conservation, China	